

# Die Größenabhängigkeit der Gleichgewichtsgeschwindigkeit von Partikeln beim Transport in Mikrokanälen

**The dependence on size of the equilibrium velocity of particles being transported in microfluidic channels**

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. Nat.) genehmigte Dissertation von Christian Sommer aus Wiesbaden

Juli 2014 – Darmstadt – D17



TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
DARMSTADT

Fachbereich Physik  
Institut für Angewandte Physik  
AG Laser und Quantenoptik

---

**Die Größenabhängigkeit der Gleichgewichtsgeschwindigkeit von Partikeln beim Transport in Mikrokanälen**

**The dependence on size of the equilibrium velocity of particles being transported in microfluidic channels**

**Vom Fachbereich Physik der Technischen Universität Darmstadt zur Erlangung des Grades eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.) genehmigte Dissertation von Dipl. Phys. Christian Sommer aus Wiesbaden**

**Referent: Prof. Dr. Thomas Walther**

**Korreferent: Dr. Michael Baßler**

**Tag der Einreichung: 14. Juli 2014**

**Tag der Prüfung: 20. Oktober 2014**

**Darmstadt - D 17**

**Bitte zitieren Sie dieses Dokument als:**

**URN: urn:nbn:de:tuda-tuprints-40595**

**URL: <http://tuprints.ulb.tu-darmstadt.de/id/eprint/4059>**

**Dieses Dokument wird bereitgestellt von tuprints,**

**E-Publishing-Service der TU Darmstadt**

**<http://tuprints.ulb.tu-darmstadt.de>**

**[tuprints@ulb.tu-darmstadt.de](mailto:tuprints@ulb.tu-darmstadt.de)**



**Die Veröffentlichung steht unter folgender Creative Commons Lizenz:**

**Namensnennung – Keine kommerzielle Nutzung – Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland**

**<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/de/>**

---

*Meiner Frau Miriam*



---

## Kurzzusammenfassung

---

Durchflusszytometer sind Standardgeräte in der klinischen Diagnostik und Bioanalytik, mit denen die Konzentration von Zellpopulationen in einer Probe gemessen wird. Ihr prinzipieller Aufbau ist seit über vierzig Jahren unverändert:

Die verdünnte Probe wird durch einen Laserfokus geführt, wobei sich immer nur eine Zelle zu einem bestimmten Zeitpunkt im Fokus befindet. Die Zellen, die mit einem für sie spezifischen Fluoreszenzfarbstoff markiert sind, senden dabei einen Fluoreszenzlichtblitz aus, durch den sie detektiert werden. Gleichzeitig wird das an der Zelle gestreute Laserlicht detektiert und damit werden Rückschlüsse auf die Zellgröße und -morphologie gewonnen.

Das neu entwickelte Konzept der räumlich modulierten Fluoreszenz für die Durchflusszytometrie setzt eine Maske ein, die aus abwechselnd transparenten und opaken Bereichen unterschiedlicher Ausdehnung besteht und in den Strahlengang des Fluoreszenzlichts zwischen Zelle und Detektor platziert wird. Dadurch wird das Signal einer Zelle moduliert (an/aus), welches anschließend im Schritt der Signalauswertung mit Hilfe von Korrelationstechniken detektiert wird. Gleichzeitig misst dieses Detektionsverfahren präzise die Geschwindigkeit der Zellen.

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurde mit Hilfe der Technik der räumlich modulierten Fluoreszenz die Geschwindigkeit von starren, sphärischen Partikeln im parabolischen Strömungsprofil eines mikrofluidischen Rechteckkanals ( $480 \cdot 12 \mu\text{m}^2$ ) gemessen. Die unter solchen fluidischen Bedingungen auftretende Migration der Partikel quer zur Strömungsrichtung in ihre Gleichgewichtslage (Segré-Silberberg Effekt) wurde mit Hilfe der Geschwindigkeitsmessung genauer untersucht, als es bisher möglich war. Der Vergleich mit den theoretischen Beschreibungen des Effekts zeigt, dass die Verläufe der Partikeltrajektorien die gemessenen Geschwindigkeitsverteilungen erklären können, aber die berechneten Laufstrecken zum Erreichen der Gleichgewichtslage zu kurz sind. Des Weiteren wurde die Gleichgewichtsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Reynoldszahl und vom Partikeldurchmesser gemessen.

Die Abhängigkeit der Gleichgewichtsgeschwindigkeit vom Partikeldurchmesser kann technisch zur Größenmessung der Partikel genutzt werden. Bei den fluidischen Bedingungen dieser Arbeit konnten Partikel im Größenbereiche  $4,24 \mu\text{m}$  bis  $6,42 \mu\text{m}$  voneinander unterschieden werden. Die Auflösung des Partikeldurchmessers nimmt mit steigender Reynoldszahl bis zu einem Wert von  $50 \text{ nm}$  zu. Auch die Größe von Zellen kann an Hand der Geschwindigkeitsmessung bestimmt werden, was demonstriert wird. Zum Schluss der Arbeit wird ein Vergleich zwischen der klassischen Größenmessung mittels Streulicht und der Größenmessung mittels der Gleichgewichtsgeschwindigkeit angestellt.



---

## Abstract

---

Flow cytometers belong to the standard equipment of clinical diagnostics and bioanalytics by which the concentration of cell populations in a sample is measured. The fundamental structure of cytometers has not been changed for more than forty years.

The diluted sample is led through a laser focus in such a way that only one cell at a time is in the focus. The cells, which are specifically marked by a fluorescent colour, reflect a fluorescent flash by which they can be detected. At the same time the laser light scattered by its contact with the cell is measured, too. The scattered laser light permits to draw conclusions concerning the size and the morphology of the cells.

The newly developed concept of the spatially modulated fluorescence for the flow cytometry uses a mask of alternating transparent and opaque areas of varying size. This mask is situated in the corridor of the fluorescent light signal between the cell and the detector. Thus the signal of a cell is modulated (on/off) and is later detected by the techniques of correlation. This technique precisely measures the velocity of the cells at the same time.

Within the context of this dissertation the velocity of rigid spherical particles in a parabolic fluid pattern of a microfluidic channel ( $480 \cdot 12 \mu\text{m}^2$ ) is measured by the technique of spatially modulated fluorescence. The migration of the particles sideways to the flow direction into their equilibrium position (Segré-Silberberg effect), which result from such fluidic conditions, is measured by the velocity of the particles more than it has been possible before. When comparing the theoretical descriptions of this effect with the experimentally measured results of this dissertation it becomes obvious that the courses of the particle migration can explain the distribution of velocity measured, but it also has to be stated that the courses calculated to reach the equilibrium position are too short. In addition to that the dependence of the equilibrium velocity on the Reynolds number and on the particle diameter is measured in this investigation.

The dependence of the equilibrium velocity on the particle diameter can technically be used to measure the size of the particles. Particles of a size from  $4.24 \mu\text{m}$  to  $6.42 \mu\text{m}$  can be distinguished from each other under the fluidic conditions used in this dissertation. The analysis of the particle diameter increases up to  $50 \text{ nm}$  depending on the increase of the Reynolds number. The size of the cells can also be determined by measuring the equilibrium velocity which is proved in this analysis. A comparison between the classic technique of measuring the size of cells with the help of scatter light and the newly developed technique of measuring the size of cells by equilibrium velocity is made at the end of this thesis.

---

## Inhaltsverzeichnis

---

<b>Kurzzusammenfassung</b>	<b>i</b>
<b>Abstract</b>	<b>iii</b>
<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>iv</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Theoretische Grundlagen</b>	<b>3</b>
2.1. Strömungslehre.....	3
2.1.1. Newtonsches Fluid und die Navier-Stokes-Gleichungen.....	3
2.1.2. Dimensionslose Variablen .....	4
2.2. Fluidströmung in einem Rechteckkanal .....	5
2.2.1. Hydrodynamische Fokussierung.....	6
2.3. Die Kriechströmung.....	7
2.3.1. Partikel im Strömungsfeld der Kriechströmung .....	7
2.3.2. Zugkraft auf ein Partikel im kriechenden Fluss.....	10
2.3.3. Strömungswiderstandskoeffizient.....	10
2.3.4. Resultierende Partikelgeschwindigkeit im kriechenden Fluss.....	12
2.4. Partikel im parabolischen Flussprofil .....	12
2.4.1. Experimentelle Untersuchungen der lateralen Migration .....	13
2.4.2. Theoretische Untersuchungen der lateralen Migration .....	17
<b>3. Experimentelle Grundlagen</b>	<b>25</b>
3.1. Der mikrofluidische Chip.....	26
3.1.1. Fräsen eines Rohlings.....	27
3.1.2. Heißprägen der Strukturen und Formkorrektur in der Fräse .....	27
3.1.3. Reinigung der Kanalstrukturen und UV-aktiviertes Bonding.....	29
3.1.4. Ultraschallschweißen der fluidischen Anschlüsse.....	31
3.1.5. Untersuchung des mikrofluidischen Chips SOI-70 .....	32
3.2. Der experimentelle Aufbau.....	38
3.3. Die Datenauswertung.....	40
3.4. Das Detektionslimit .....	47
3.5. Der Einfluss der Partikelkonzentration auf die Geschwindigkeitsmessung.....	51
<b>4. Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>57</b>
4.1. Untersuchung der Partikel-Fluid Wechselwirkung .....	57
4.2. Partikelgrößenmessung durch Gleichgewichtsgeschwindigkeitsmessung .....	69
4.3. Zellgrößenmessung durch Gleichgewichtsgeschwindigkeitsmessung .....	73
<b>5. Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>77</b>
5.1. Zusammenfassung.....	77
5.2. Ausblick .....	79
<b>6. Anhang</b>	<b>81</b>
6.1. Herleitung des Strömungsprofils eines Kanals mit rechteckigem Querschnitt .....	81
6.2. Absolute Messwerte der Geschwindigkeiten .....	83
<b>Danksagung</b>	<b>84</b>
<b>Notation</b>	<b>85</b>



---

Abbildungsverzeichnis	87
Tabellenverzeichnis	89
Quellenverzeichnis	90
Veröffentlichungen und Tagungsbeiträge	93
Betreute Diplom- und Bachelorarbeiten	94
Lebenslauf	95
Erklärung zur Dissertation	97



---

## 1. Einleitung

---

Unter Durchflusszytometrie versteht man ein technisches Verfahren aus der Biologie und der Medizin, mit dem die Konzentration bestimmter Zellen in einer flüssigen Probe vermessen wird. Dieses geschieht, wie der Name sagt, im Durchfluss, d.h. die Probe strömt durch eine Detektionszone, in der jede einzelne Zelle erkannt und gezählt wird. In den heute kommerziell erhältlichen Durchflusszytometern wird die Detektion mittels laserangeregter Fluoreszenzdetektion durchgeführt. Impedanzmessung wird ebenfalls als Detektionsprinzip eingesetzt, hat aber aufgrund der geringeren Selektivität zur Unterscheidung von Zelltypen nur eine untergeordnete Bedeutung. Das fluoreszenzbasierte Messverfahren geht auf eine Erfindung von W. Dittrich und W. Göhde<sup>1</sup> aus dem Jahr 1968 zurück.

An bestimmte Proteine einer Zelle lassen sich spezifisch fluoreszierende Moleküle anbinden. Ein Beispiel hierfür ist das grün fluoreszierende Protein (GFP), von dem es mittlerweile auch Modifikationen mit roter oder gelber Fluoreszenz gibt. Man spricht dann von einer mittels Fluoreszenz „markierten“ Zelle. Durch den Einsatz von sogenannten Immunkonjugaten (Antikörper) können Zellen anhand charakteristischer Membranproteine selektiv markiert werden. Ein bestimmter Zelltyp in einer Probe mit mehreren Zelltypen kann so eindeutig von allen anderen Zellen unterschieden werden.

Dieses Verfahren wird in modernen Durchflusszytometern genutzt: Verwendet werden Laserstrahlen verschiedener Wellenlängen (standardmäßig z.B. 405 nm oder 488 nm). Alle Zellen einer Probensuspension werden während des Transports zur Detektionszone durch einen fluidischen „Trick“ (die hydrodynamische Fokussierung) ähnlich einer „Perlenschnur“ aufgereiht. Der Laserstrahl wird auf diese Perlenschnur fokussiert. Der Abstand der einzelnen Zellen zueinander ist wesentlich größer als der Durchmesser des Laserfokus, so dass sich immer nur eine Zelle im Fokus befindet. Die Zellen, die mit einem von der Wellenlänge des Lasers zum Leuchten anregbaren Fluoreszenzfarbstoff markiert sind, senden dabei einen Fluoreszenzlichtblitz aus. Ein optischer Filter trennt das an der Zelle gestreute Laseranregungslicht von dem Fluoreszenzlichtblitz, weil das Spektrum des Fluoreszenzlichts im Vergleich zum Spektrum der Anregungswellenlänge zu höheren Wellenlängen hin verschoben ist (Stokes-Shift). Nur der Fluoreszenzlichtblitz wird vom Detektor erkannt und vom Durchflusszytometer als Zelle gezählt. In seinem Buch beschäftigt sich H.M. Shapiro<sup>2</sup> sehr eingehend mit der Durchflusszytometrie.

Das gesamte Volumen der zu untersuchenden Probensuspension muss bei einem konventionellen Durchflusszytometer durch den Laserfokus gefördert werden. Bedingt durch technische Grenzen liegt heutzutage die maximale Probenflussrate bei etwa 150 µl/min (CyAn™ ADP Analyzer, Beckman Coulter). Oft sind aber Probenvolumina von mehreren Millilitern erforderlich, z.B. bei der Untersuchung von selten vorkommenden Zellen, so dass die Messzeit für eine solche Probe unvertretbar lang wird. Zudem ist in Durchflusszytometern eine sehr hohe Präzision erforderlich, um mit dem Laserfokus die Perlenschnur der Zellen zuverlässig zu treffen. Dies führt zu großen, sowie kosten- und wartungsintensiven Optiken in den Geräten.

Ersetzte man den Laserfokus jedoch durch eine wesentlich größere Anregungszone können die Anforderungen an die mechanische, fluidische und optische Präzision herabgesetzt werden. In einer entsprechend vergrößerten Anregungszone können sich allerdings mehrere Zellen gleichzeitig befinden, so dass ein Lichtblitz nicht mehr einer einzelnen Zelle zugeordnet werden kann. Das konventionelle Durchflusszytometer kann unter solchen Umständen nicht mehr korrekt zählen. Abhilfe schafft hier die relativ neue Technik der „räumlich modulierten Fluoreszenz“ (RMF), die von Kiesel *et al.*<sup>3</sup> eingeführt wurde: Die Anregungszone wird wesent-

---

lich vergrößert. Das Zählen der Zellen erfolgt nicht mehr über den Lichtblitz, sondern über den Einsatz einer Maske mit abwechselnd transparenten und opaken Abschnitten, die das zeitlich konstante Fluoreszenzsignal einer Zelle, die durch die Anregungszone gefördert wird, charakteristisch moduliert. Das modulierte Signal ist eine Art „Fingerabdruck“ einer Zelle im Detektorsignal, der durch das Berechnen von Korrelationsfunktionen wiedergefunden wird und erst dann als Zelle gezählt wird. Durch den „Fingerabdruck“ ist es möglich, Zellen voneinander zu unterscheiden, die sich gleichzeitig in der Anregungszone befinden. Wie genau der „Fingerabdruck“ durch das Errechnen von Korrelationsfunktionen wiedergefunden werden kann, wird in Kapitel 3.3 eingehend erläutert.

Die RMF Technik bedingt den Einsatz von Mikrokanälen. Die Blickrichtung des Detektors wird von oben durch die Maske auf die Anregungszone gerichtet. Zwei Zellen, die direkt übereinander durch die Anregungszone fließen, können nicht voneinander unterschieden werden, auch nicht durch den Einsatz einer Maske. Deshalb muss der Kanal so flach gestaltet werden, dass durch die Fluidströmung verhindert wird, dass sich zwei Zellen übereinander befinden können. Aufgrund typischer Zellgrößen kommt man so in den Bereich der Mikrofluidik. Die Mikrokanäle haben einen rechteckigen Querschnitt, und es bildet sich ein parabolisches Strömungsprofil. In solch einem Strömungsprofil kommt es unter bestimmten, fluidischen Bedingungen zum sogenannten Segré-Silberberg Effekt, d.h. der Partikeltransport im Kanal findet nur in einem eng eingegrenzten, räumlichen Bereich statt, in der sogenannten Gleichgewichtslage der Partikel. Der räumliche Bereich dieser Gleichgewichtslage hängt in Mikrokanälen stark von der Partikelgröße ab, wie Forschungsergebnisse von Hur *et al.*<sup>4</sup> zeigen. Dies legt auch die Vermutung nahe, dass es eine Abhängigkeit der Partikelgeschwindigkeit von der Partikelgröße gibt, da in unterschiedlichen Raumbereichen auch unterschiedliche Strömungsgeschwindigkeiten herrschen, obwohl dies bisher nicht nachgewiesen werden konnte<sup>5</sup>. Eine Messung der Partikelgeschwindigkeit ist in der RMF-Technik intrinsisch enthalten, und so stellt sich die Frage, ob mit Hilfe dieser Geschwindigkeitsmessung unter den entsprechenden fluidischen Bedingungen umgekehrt auch die Partikel- oder Zellgröße gemessen werden kann. Die Untersuchung dieser Möglichkeit ist ein wesentliches Ziel dieser Arbeit.

Die Messung der Geschwindigkeitsverteilung von Partikeln in einem parabolischen Strömungsprofil von Mikrokanälen, insbesondere beim Auftreten des Segré-Silberberg Effektes, ist bisher noch nicht ausführlich erforscht worden und daher von großem akademischen Interesse. Die Dynamik der Partikel-Fluid Wechselwirkung kann sehr genau an Hand der Geschwindigkeitsmessung untersucht werden; genauer, als dies mit bisherigen fotografischen Verfahren möglich ist. In Kapitel 4 werden die experimentellen Ergebnisse der Untersuchung der Partikel-Fluid Wechselwirkung dargestellt und mit den Theorien, die in Kapitel 2.4.2 vorgestellt werden, verglichen.

---

## 2. Theoretische Grundlagen

---

Im Kapitel 2.1 werden die Grundgleichungen der Strömungslehre beschrieben. Die benötigten, analytischen Lösungen dieser Grundgleichungen werden in den Kapiteln 2.2 und 2.3 behandelt. Zum aktuellen Stand der Forschung führt Kapitel 2.4, indem es die experimentelle und theoretische Forschung vorstellt.

### 2.1. Strömungslehre

Die Grundgleichungen der Strömungslehre ergeben sich aus den Erhaltungssätzen der Masse (2.1), des Impulses (2.2) und der Energie (2.3).

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{v}) = 0 \quad (2.1)$$

$$\rho \frac{D\vec{v}}{Dt} = \rho \vec{g} + \vec{\nabla} \cdot \tau_{ij} \quad (2.2)$$

$$\rho \frac{Dh}{Dt} = \frac{Dp}{Dt} + \vec{\nabla} \cdot (k \vec{\nabla} T) + \tau_{ij} \frac{\partial v_i}{\partial x_j} \quad (2.3)$$

mit

$$\frac{D}{Dt} = \frac{\partial}{\partial t} + (\vec{v} \cdot \vec{\nabla}) \quad (2.4)$$

Die Gleichungen (2.1) bis (2.3) hängen direkt von den drei Unbekannten: Druck  $p$ , Temperatur  $T$  und Geschwindigkeitsvektorfeld  $\vec{v}(t) = (v_1, v_2, v_3) = (u, v, w)$  ab. Das Geschwindigkeitsvektorfeld  $\vec{v}$  liefert die Richtung und die Geschwindigkeit, mit der das Fluid an einem bestimmten Ort  $\vec{x}(t) = (x_1, x_2, x_3) = (x, y, z)$  strömt.

Von dem Druck  $p$  und der Temperatur  $T$  hängen sowohl die thermodynamischen Variablen Dichte  $\rho = \rho(p, T)$  und Enthalpie pro Volumen  $h = h(p, T)$  ab als auch die Transporteigenschaften dynamische Viskosität  $\mu = \mu(p, T)$  und Wärmeleitfähigkeit  $k = k(p, T)$ . Wenn  $p$  und  $T$  konstant sind, dann sind auch  $\rho$  und  $\mu$  konstant, und damit werden die Gleichungen (2.1) und (2.2) unabhängig von Druck und Temperatur. In Gleichung (2.2) ist  $\vec{g}$  die Gravitationskonstante und der dazugehörige Summand beschreibt die Gewichtskraft, die gleichmäßig auf jedes infinitesimale Fluidelement  $dV$  wirkt. Der Spannungstensor  $\tau_{ij}$  in den Gleichungen (2.2) und (2.3) hingegen enthält sowohl Dehnungs- als auch Scherkräfte. Gleichung (2.3) hat für die Betrachtungen in dieser Arbeit geringe Bedeutung und wird daher im Folgenden nicht eingehender betrachtet. Die Herleitung der Gleichungen (2.1), (2.2) und (2.3) kann Standardwerken wie z.B. F.M. White<sup>6</sup> entnommen werden. Die mathematische Notation wurde teilweise von F.M. White übernommen.

#### 2.1.1. Newtonsches Fluid und die Navier-Stokes-Gleichungen

Ein newtonsches Fluid zeichnet sich nach Stokes (1845) durch drei Eigenschaften aus:

1. Das Fluid ist kontinuierlich und der Spannungstensor  $\tau_{ij}$  hängt linear vom Dehnungstensor  $\varepsilon_{ij}$  ab.
2. Das Fluid ist isotrop.
3. Wenn keine Dehnung vorliegt, muss der Zusammenhang zwischen  $\tau_{ij}$  und  $\varepsilon_{ij}$  in die hydrostatische Bedingung  $\tau_{ij} = -p\delta_{ij}$  übergehen.

Der Dehnungstensor ist wie der Spannungstensor symmetrisch und seine Elemente sind folgendermaßen definiert

$$\varepsilon_{ij} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial v_i}{\partial x_j} + \frac{\partial v_j}{\partial x_i} \right) \quad (2.5)$$

Die obigen drei Postulate führen zu folgendem Zusammenhang zwischen dem Spannungstensor und dem Dehnungstensor

$$\tau_{ij} = -p\delta_{ij} + \mu \left( \frac{\partial v_i}{\partial x_j} + \frac{\partial v_j}{\partial x_i} \right) + \delta_{ij}\lambda_{Vol} \vec{\nabla} \cdot \vec{v} \quad (2.6)$$

Neben der Viskosität  $\mu$  enthält Gleichung (2.6) zusätzlich noch einen Term, der den Parameter  $\lambda_{Vol}$  enthält. Dieser Parameter  $\lambda_{Vol}$  heißt Volumenviskosität und ist nur dann von Bedeutung, wenn sich das Volumen vergrößert. Gleichung (2.6) eingesetzt in Gleichung (2.2) führt zur bekannten Navier-Stokes-Gleichung eines newtonschen Fluides in ihrer allgemeinen Form.

$$\rho \frac{D\vec{v}}{Dt} = \rho \vec{g} - \vec{\nabla} p + \frac{\partial}{\partial x_j} \left[ \mu \left( \frac{\partial v_i}{\partial x_j} + \frac{\partial v_j}{\partial x_i} \right) + \delta_{ij}\lambda_{Vol} \vec{\nabla} \cdot \vec{v} \right] \quad (2.7)$$

Bei einem inkompressiblen Fluid ist die Dichte  $\rho$  konstant und in der Navier-Stokes-Gleichung (2.7) verschwindet der Term, der die Volumenviskosität enthält, da Gleichung (2.1) reduziert ist auf

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{v} = 0 \quad (2.8)$$

Unter Voraussetzung konstanter Viskosität  $\mu$  kann man die Navier-Stokes-Gleichung schließlich weiter vereinfachen zu

$$\rho \frac{D\vec{v}}{Dt} = -\vec{\nabla} p + \mu \Delta \vec{v} \quad (2.9)$$

Gleichung (2.9) ist die Grundgleichung für die Untersuchung der Partikel-Fluid Wechselwirkung in dieser Arbeit.

### 2.1.2. Dimensionslose Variablen

Um die Gültigkeit einer Lösung von Gleichung (2.9) auf eine Vielzahl von Systemen von z.B. unterschiedlichen Größenordnungen zu übertragen, ist es allgemein üblich, dimensionslose Variablen einzuführen. Eine Möglichkeit, die Stokes 1851 wählte, ist

$$\vec{x}^* = \frac{\vec{x}}{L}, \vec{v}^* = \frac{\vec{v}}{U}, t^* = \frac{tU}{L}, p^* = \frac{p - p_\infty}{\mu U / L} \quad (2.10)$$

Die charakteristische Länge  $L$ , die charakteristische Geschwindigkeit  $U$  und der charakteristische Druck  $p_\infty$  werden abhängig vom betrachteten System gewählt. Setzt man die dimensionslosen Variablen  $\vec{x}^*, \vec{v}^*, t^*, p^*$  in Gleichung (2.9) ein, folgt nach Umformen

$$Re \frac{D\vec{v}^*}{Dt^*} = -\vec{\nabla}^* p^* + \Delta^* \vec{v}^* \quad (2.11)$$

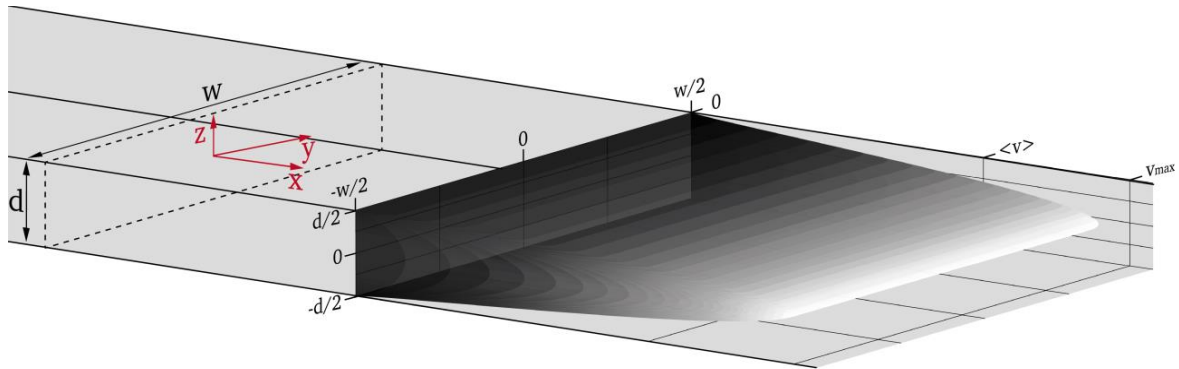
$$Re = \frac{\rho UL}{\mu} \quad (2.12)$$

Der Term  $D\vec{v}^*/Dt^*$  beschreibt die Trägheit des Fluides, auch Inertia genannt.  $\vec{\nabla}^* p^*$  ist der Beitrag des hydrostatischen Drucks und der Term  $\Delta^* \vec{v}^*$  beschreibt die viskose Kraft. Letztere ist folgendermaßen zu verstehen: Die Viskosität ist ein Maß für die Wechselwirkung der Teilchen untereinander. Diese Wechselwirkung überträgt z.B. eine Reibungskraft zwischen der Fluidschicht direkt an einer Rohrwand auf weiter innen liegende Fluidschichten.

Die Reynoldszahl  $Re$  (2.12) setzt die mittlere Trägheit des Fluids, die mit  $\rho U$  skaliert, ins Verhältnis zu den durch die Viskosität bedingten Kräften, die mit dem Verhältnis  $L/\mu$  skalieren.

## 2.2. Fluidströmung in einem Rechteckkanal

In Abbildung 2.1 ist ein Rechteckkanal gezeigt mit einem Aspektverhältnis von Höhe  $d$  zu Breite  $w$  von 0,025, wie es bei den Experimenten für diese Arbeit üblicherweise verwendet wurde. Ein Koordinatensystem (rot) ist in die Kanalmitte gelegt, dessen  $y$ - $z$ -Ebene die Querschnittsfläche des Kanals aufspannt und dessen  $x$ -Achse in Richtung der Längsachse des Kanals zeigt.



**Abbildung 2.1** Es ist ein Rechteckkanal skizziert mit einer Höhe  $d$  und einer Breite  $w$ , in dem an einer willkürlichen Position der Querschnitt (gestrichelte Linie) eingezeichnet wurde, um die Ausrichtung des Koordinatensystems (rote Pfeile) zu verdeutlichen. Das Aspektverhältnis  $d/w$  entspricht den für diese Arbeit typischen Werten. Aufgrund dieses Verhältnisses bildet sich das eingezeichnete Strömungsprofil des Fluids aus.

Als charakteristische Geschwindigkeit  $U$  wird die mittlere Geschwindigkeit  $\langle v \rangle$  der Flussrate gewählt. Die charakteristische Länge  $L$  ist der hydraulische Durchmesser  $D_h$  für einen Rechteckkanal. Dieser wird mittels der Breite  $w$  und der Höhe  $d$  folgendermaßen definiert

$$D_h = \frac{2wd}{w + d} \quad (2.13)$$

Eine allgemeine Erläuterung für das Konzept des hydraulischen Durchmessers findet sich bei White<sup>6</sup>. Die Reynoldszahl  $Re$  (2.12) wird damit zur Kanalreynoldszahl  $Re_K$

$$Re_K = \frac{\rho \langle v \rangle D_h}{\mu} \quad (2.14)$$

Experimentell nachgewiesen ist, dass für Kanalreynoldszahlen von  $Re_K < 2000$  die Strömung durch einen Rechteckkanal laminar ist. Während einer Einlaufstrecke in  $x$ -Richtung am Beginn des Kanals, die durch  $R_K < 2000$  auf  $100 \cdot D_h$  beschränkt ist, entwickelt sich das in Abbildung 2.1 gezeigte, parabolische Strömungsprofil, das sich bei konstantem Kanalquerschnitt und konstanter Flussrate (=konstanter Druckgradient) in  $x$ -Richtung nach der Einlaufstrecke nicht mehr ändert. Man spricht dann von einem voll entwickelten Strömungsprofil. Die Strömungsrichtung ist nach der beschriebenen Einlaufstrecke ausschließlich in  $x$ -Richtung. Das Strömungsprofil ist achsensymmetrisch sowohl zur  $y$ - als auch zur  $z$ -Achse. Allgemein nennt man eine durch einen Druckgradienten hervorgerufene Fluidströmung in einem Kanal Poiseuille Strömung.

Für eine Poiseuille Strömung ausschließlich in  $x$ -Richtung vereinfacht sich die Navier-Stokes-Gleichung eines inkompressiblen Fluides (2.9) weiter zu

$$0 = -\frac{\partial p}{\partial x} + \mu \left( \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial z^2} \right) \quad (2.15)$$

da sich die Kontinuitätsgleichung (2.8) auf

$$\frac{\partial u}{\partial x} = 0 \quad (2.16)$$

reduziert. Die Reibung des Fluids an den Kanalwänden wird mathematisch berücksichtigt durch die sogenannte „no-slip“ Bedingung.

$$u(y, z) = 0, \forall z \left| y = \pm \frac{w}{2} \vee \forall y \left| z = \pm \frac{d}{2} \quad (2.17)$$

Unter der „no-slip“ Bedingung versteht man, dass die Geschwindigkeit  $u(y, z)$  des Strömungsprofils auf der Oberfläche der Kanalwand zwingend null wird.

Die Lösung von Gleichung (2.15) wird mittels der Fourier-Transformation gewonnen (siehe Anhang 6.1) und lautet

$$u(y, z) = \frac{4w^2}{\mu\pi^3} \left( -\frac{\partial p}{\partial x} \right) \sum_{i=1,3,5,\dots}^{\infty} (-1)^{\frac{i-1}{2}} \left[ 1 - \frac{\cosh\left(\frac{i\pi z}{w}\right)}{\cosh\left(\frac{i\pi d}{2w}\right)} \right] \cdot \frac{\cos\left(\frac{i\pi y}{w}\right)}{i^3} \quad (2.18)$$

Gleichung (2.18) beschreibt das in Abbildung 2.1 skizzierte Strömungsprofil.

### 2.2.1. Hydrodynamische Fokussierung

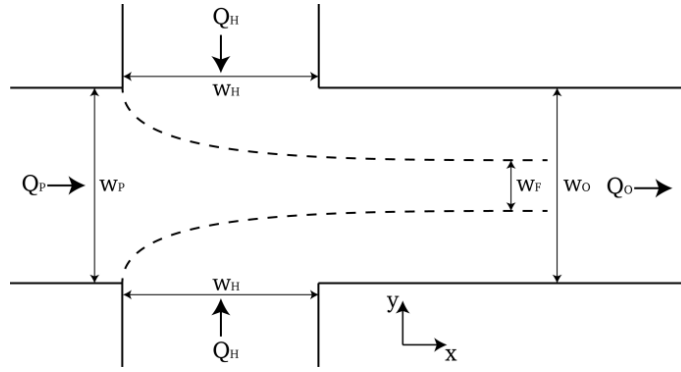
Um in einem fluidischen System einen Probenstrom zu verjüngen und damit Partikel oder Zellen nur einem bestimmten Bereich des Strömungsprofils aus Abbildung 2.1 auszusetzen, nutzt man die Hydrodynamische Fokussierung. Dabei wird der Probenstrom  $Q_P$  von einem Hüllstrom  $Q_H$  umflossen. In einem kanalbasierten, mikrofluidischen System wird dies über eine Kanalkreuzung realisiert. In dieser Arbeit ist die Kreuzung der Rechteckkanäle rechtwinklig ausgeführt, wie in Abbildung 2.2 skizziert.

Die Höhe  $d$  des gesamten Kanalsystems ist konstant. Die Breiten  $w_H$  (Hüllstromzuführung),  $w_P$  (Probenzuführung) und  $w_O$  (Messkanal) sind der Einfachheit halber gleich. Ist das Verhältnis von Kanalhöhe  $d$  und -breite  $w$  derart, dass  $d/w \rightarrow \infty$ , wie im Falle von Abbildung 2.1, dann ist das Strömungsprofil im Kanal über den größten Bereich der Ausdehnung in  $y$ -Richtung nur von der Höhe  $d$  und der Flussrate abhängig. Der Einfluss der Wände bei  $y = \pm w/2$  auf das Strömungsprofil ist von kurzer Reichweite. Für diesen Fall hängt die fokussierte Breite des Probenstroms  $w_F$  folgendermaßen von den Flussraten der Hüllströme  $Q_H$  und der Probenströme  $Q_P$  ab

$$w_F = \frac{Q_P}{Q_P + 2Q_H} w_O \quad (2.19)$$

Eine Herleitung dieser Formel mit Details zur Abhängigkeit  $w_F$  von  $d/w$  sowie weiterführende Informationen sind in der Veröffentlichung von Gwo-Bin Lee *et al.*<sup>7</sup> von 2006 zu finden.





**Abbildung 2.2** Skizze einer Kanalkreuzung, die zur hydrodynamischen Fokussierung genutzt wird. Über die Probenzuflüsse des Hüllstroms  $Q_H$  kann die Breite der Fokussierung  $b_F$  des eingeschnürten Probenstroms (gestrichelte Linie) eingestellt werden. Das Koordinatensystem in der rechten unteren Ecke verdeutlicht die Ausrichtung der Skizze in der  $xy$ -Ebene aus Abbildung 2.1.

Ist der Probenfluss  $Q_P$  eine Suspension, d.h. enthält er Partikel mit Durchmesser  $D_P < w_F$ , verbleiben diese im eingeschnürten Bereich  $w_F$  von Abbildung 2.2. Das von  $y$  unabhängige Strömungsprofil im eingeschnürten Bereich ist parabolisch und kann durch die Formel einer Rohrströmung (Hagen-Poiseuille Strömung) folgendermaßen beschrieben werden

$$u(z) = \frac{1}{\mu d^2} \left( -\frac{\partial p}{\partial x} \right) \left( 1 - \frac{4z^2}{d^2} \right) \quad (2.20)$$

### 2.3. Die Kriechströmung

Wenn die Reynoldszahl  $Re \ll 1$  ist, spielen die Inertia des Fluids keine Rolle und Gleichung (2.11) kann vereinfacht werden zu

$$\vec{\nabla} p \approx \mu \Delta \vec{v} \quad (2.21)$$

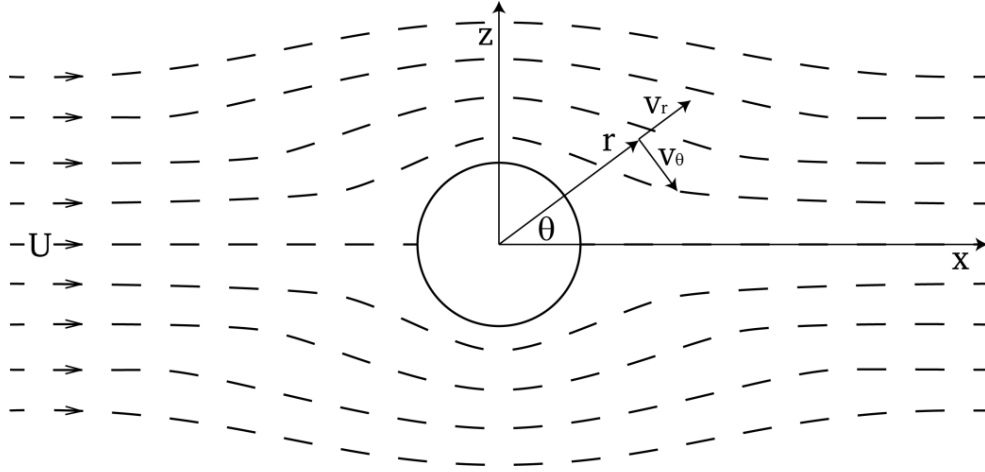
wobei jetzt keine dimensionslosen Variablen verwendet werden. Diese Gleichung beschreibt den sogenannten „kriechenden Fluss“, da sie nur für geringe charakteristische Geschwindigkeiten  $U$  gültig ist. Ein Beispiel für solch einen Fluss ist strömende (zähflüssige) Lava.

#### 2.3.1. Partikel im Strömungsfeld der Kriechströmung

Die vereinfachte Navier-Stokes-Gleichung des kriechenden Flusses (2.21) wird nun auf die Situation aus Abbildung 2.3 angewandt, in der ein unbewegtes, starres und sphärisches Partikel die Strömung eines kriechenden Flusses stört. Die Strömung hat eine konstante Geschwindigkeit  $U$ , die auch als charakteristische Geschwindigkeit gewählt wird, und in Richtung der  $x$ -Achse fließt. In Richtung der  $z$ - und  $y$ -Achse (die in das Blatt hinein zeigt) ist die Fluidströmung unendlich ausgedehnt.

Die Lösung der Gleichung (2.21) erfolgt in Kugelkoordinaten, wie in Abbildung 2.3 angedeutet. Der Ursprung des Koordinatensystems liegt im Schwerpunkt des Partikels. Der nicht gezeigte Winkel  $\varphi$  des Kugelkoordinatensystems liegt in der  $yz$ -Ebene. Aufgrund der unendlichen Ausdehnung der Strömung in  $y$ - und  $z$ -Richtung, kann keine der beiden Richtungen für eine Strömung bevorzugt sein. Deswegen wird Rotationssymmetrie um die  $x$ -Achse gefordert. Diese Rotationssymmetrie führt zu einem allgemeinen Geschwindigkeitsvektor (2.22) in Kugelkoordinaten, dessen  $\varphi$ -Komponente verschwindet.

$$\vec{v} = \begin{pmatrix} v_r \\ v_\theta \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.22)$$



**Abbildung 2.3** Skizziert ist ein unbewegtes, starres und sphärisches Partikel, umströmt von einem Fluid, das die Bedingungen des kriechenden Flusses erfüllt. Die nicht gezeigte y-Achse zeigt in das Blatt hinein.

Für einen 2-dimensionalen Geschwindigkeitsvektor wird die Kontinuitätsgleichung (2.8) mit Hilfe des Konzepts der Stromfunktion  $\psi$  gelöst (siehe F.M. White<sup>6</sup>). Die Stromfunktion  $\psi$  ist der Volumenstrom, der entlang der gestrichelten Linien in Abbildung 2.3 konstant ist. Es gibt keine Strömung quer zu diesen Linien. Die in sphärische Koordinaten transformierte Kontinuitätsgleichung lautet

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{v} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} (r^2 v_r) + \frac{1}{r \sin \theta} \frac{\partial}{\partial \theta} (v_\theta \sin \theta) \quad (2.23)$$

Wählt man den Volumenstrom  $\psi$  nun derart, dass die Geschwindigkeitskomponenten folgendermaßen von  $\psi$  abhängen

$$v_r = \frac{1}{r^2 \sin \theta} \frac{\partial \psi}{\partial \theta} \quad (2.24)$$

$$v_\theta = -\frac{1}{r \sin \theta} \frac{\partial \psi}{\partial r} \quad (2.25)$$

so löst diese Wahl die Kontinuitätsgleichung (2.23) identisch. Die Impulsgleichung (2.21) kann auf die Stromfunktion  $\psi$  umgeschrieben werden. Berechnet man die Rotation der Impulsgleichung (2.21)

$$0 = \vec{\nabla} \times \vec{\nabla} p = \vec{\nabla} \times (\mu \Delta \vec{v}) = \mu \Delta (\vec{\nabla} \times \vec{v}) = \mu \Delta \vec{\omega} \quad (2.26)$$

verschwindet der Druckgradient und das Geschwindigkeitsvektorfeld wird zur Vortizität  $\vec{\omega}$  transformiert. Ist das Geschwindigkeitsvektorfeld nur von zwei Vektoren abhängig, wie in Gleichung (2.22) gezeigt, so existiert nur die  $\varphi$ -Komponente der Vortizität. Mit den Gleichungen (2.24) und (2.25) kann einfach gezeigt werden, dass gilt

$$\vec{\omega} = \omega_\varphi = -\vec{\nabla}^2 \psi \quad (2.27)$$

Damit wird die transformierte Impulsgleichung (2.26) zur zweidimensionalen, biharmonischen Gleichung (2.28) (siehe F.M. White<sup>6</sup>)

$$\Delta \vec{\omega} = -\vec{\nabla}^4 \psi = 0 \quad (2.28)$$

Die Gleichung (2.28) in Kugelkoordinaten ausgedrückt lautet

$$\left( \frac{\partial^2}{\partial r^2} + \frac{1}{r^2} \frac{\partial^2}{\partial \theta^2} - \frac{\cot \theta}{r^2} \frac{\partial}{\partial \theta} \right)^2 \psi = 0 \quad (2.29)$$

Die Randbedingungen für die Situation aus Abbildung 2.3, die bei der Lösung von Gleichung (2.29) beachtet werden müssen, sind

$$r = R: \quad \frac{\partial \psi}{\partial r} = \frac{\partial \psi}{\partial \theta} = 0 \quad (2.30)$$

$$r \rightarrow \infty: \quad \psi \rightarrow \frac{1}{2} U r^2 \sin^2 \theta + \text{const.} \quad (2.31)$$

Die Randbedingung (2.30) ist offensichtlich, da das sphärische Partikel als starr angenommen wird.

Warum der Volumenstrom im Unendlichen die Randbedingung (2.31) annimmt, ist nicht direkt ersichtlich und wird im Folgenden erläutert: Im Unendlichen ist die Strömung parallel zur  $x$ -Achse und kann in die einzelnen Geschwindigkeitskomponenten

$$v_r = U \cos \theta \quad (2.32)$$

$$v_\theta = -U \sin \theta \quad (2.33)$$

zerlegt werden. Das Einsetzen von Gleichung (2.32) in Gleichung (2.24) und die anschließende Integration führen zur Randbedingung (2.31), die auch gleichzeitig den Lösungshinweis für die Stromfunktion  $\psi$

$$\psi(r, \theta) = f(r)g(\theta) \quad (2.34)$$

enthält.

Damit findet man die Lösung von Stokes für die Stromfunktion  $\psi$  des kriechenden Flusses um ein suspendiertes Partikel

$$\psi = \frac{1}{4} U R^2 \sin^2 \theta \left( \frac{R_p}{r} - \frac{3r}{R_p} + \frac{3r^2}{R_p^2} \right) \quad (2.35)$$

aus der sich die Geschwindigkeitskomponenten nach Gleichung (2.24) und (2.25) zu

$$v_r = U \cos \theta \left( 1 + \frac{R_p^3}{2r^3} - \frac{3R_p}{2r} \right) \quad (2.36)$$

$$v_\theta = U \sin \theta \left( -1 + \frac{R_p^3}{4r^3} + \frac{3R_p}{4r} \right) \quad (2.37)$$

ergeben. Details der Herleitung können im Buch von Milton van Dyke<sup>8</sup> nachgelesen werden.

Anhand der Gleichungen (2.35), (2.36) und (2.37) werden einige Eigenschaften des kriechenden Flusses deutlich. Wie in Abbildung 2.3 skizziert, sind die Stromlinien vor dem Partikel spiegelsymmetrisch zu denen hinter dem Partikel. Auch ist der kriechende Fluss unabhängig von der Viskosität. Schließlich ist die Geschwindigkeit überall in Richtung der  $z$ -Achse entweder gleich  $U$  oder verzögert, sie wird niemals schneller.

### 2.3.2. Zugkraft auf ein Partikel im kriechenden Fluss

Setzt man die abgeleiteten Geschwindigkeiten  $v_r$  und  $v_\theta$  in Gleichung (2.21) ein und integriert anschließend, findet man die Druckverteilung

$$p(r, \theta) = p_\infty - \frac{3\mu R_p U}{2r^2} \cos \theta \quad (2.38)$$

die antisymmetrisch ist. Aus der Feststellung der Antisymmetrie folgt, dass eine Kraft auf das Partikel ausgeübt wird, die als Druckkraft bezeichnet wird.

Zu dieser Druckkraft ergibt sich eine Weitere aus den Scherspannungen, die an der Partikeloberfläche angreifen. Die Verteilung dafür kann man ableiten aus der Definition des Spannungstensors (2.6)

$$\tau_{r\theta} = \mu \left( \frac{1}{r} \frac{\partial v_r}{\partial \theta} + \frac{\partial v_\theta}{\partial r} - \frac{v_\theta}{r} \right) = -\frac{\mu U \sin \theta}{r} \left( \frac{3R_p^3}{2r^3} \right) \quad (2.39)$$

Durch die Integration von  $p$  und  $\tau_{r\theta}$  über die gesamte Kugeloberfläche ergibt sich die Zugkraft auf ein Partikel zu

$$F_S = 4\pi\mu UR_p + 2\pi\mu UR_p = 6\pi\mu UR_p \quad (2.40)$$

Gleichung (2.40) ist die Gleichung von Stokes, die er über den hier beschriebenen Weg 1851 abgeleitet hat. Der erste Term beschreibt die viskose Kraft aus der Integration über  $\tau_{r\theta}$  und der zweite Term die Druckkraft aus der Integration über  $p$ .

Allgemein üblich ist die Definition des Strömungswiderstandskoeffizienten  $C_D$  durch

$$C_D = \frac{2F_S}{\rho U^2 \pi R_p^2} = \frac{24}{Re_p} \quad (2.41)$$

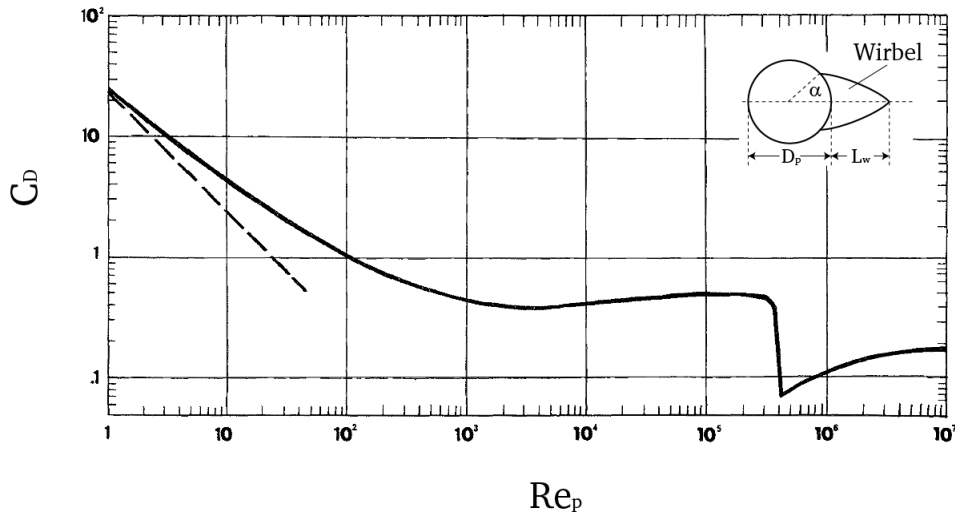
$$Re_p = \frac{2R_p \rho U}{\mu} \quad (2.42)$$

Zu unterscheiden ist hier zwischen der Reynoldszahl aus Definition (2.12), die im Falle des kriechenden Flusses verschwindet, und der Partikelreynoldszahl  $Re_p$ , die ein Maß für die Störung der fluidischen Strömung durch die Größe des Partikels ist.

### 2.3.3. Strömungswiderstandskoeffizient

Die in Gleichung (2.41) gegebene Definition des Strömungswiderstandskoeffizienten  $C_D$  gilt nur für den Bereich  $Re \ll 1$  des kriechenden Flusses. Wie in Abbildung 2.4 gezeigt, weicht oberhalb dieses Bereichs der experimentelle Wert von  $C_D$  (durchgezogene Linie) signifikant von Gleichung (2.41) (gestrichelte Linie) ab.

Die in der Herleitung vernachlässigten Inertialkräfte verursachen eine Störung der Symmetrie um die  $z$ -Achse in Abbildung 2.3. Ab einer Reynoldszahl von ungefähr 20 trennen sich die Stromlinien, die auf der Partikeloberfläche verlaufen, unter einem Winkel  $\alpha$ , wie in Abbildung 2.4 rechts oben gezeigt, und es bildet sich ein statischer Wirbel mit einer Länge  $L_W$  auf der der Strömung abgewandten Seite des Partikels. Mit zunehmender Reynoldszahl  $Re$  nimmt sowohl  $\alpha$  als auch  $L_W$  weiter zu. Der Wirbel beginnt zusätzlich ab  $Re > 130$  um die  $z$ -Achse zu schwingen, dabei beträgt die Schwingungsamplitude maximal 10 % des Partikeldurchmessers. Dieses Verhalten führt zu Veränderungen der Druckverteilung auf der Oberfläche des Partikels, so dass letztlich der Strömungswiderstandskoeffizient bei einer Erhöhung der Reynoldszahl über 400 um den Wert  $C_D \approx 0,5$  stagniert.



**Abbildung 2.4** Der Graph zeigt die experimentell gemessene Abhängigkeit des Stömungswiderstandskoeffizienten  $C_D$  von der Reynoldszahl  $Re$  (durchgezogene Linie). Die gestrichelte Linie folgt dem Stokesschen Gesetz. Die Skizze in der oberen, rechten Bildecke zeigt den Bereich im Strömungsschatten, in dem ein Wirbel entsteht. Charakteristische Größen für einen solchen Wirbel sind der Winkel  $\alpha$ , an dem sich die Stromlinien von der Partikeloberfläche trennen, und die Länge des Wirbels  $L_w$ . (Abbildung entnommen aus R. Clift *et al.*<sup>9</sup>.)

Der Bereich zwischen  $2 \cdot 10^5 < Re < 3,5 \cdot 10^5$  wird als kritischer Übergang bezeichnet. Der Winkel  $\alpha$  vergrößert sich von  $80^\circ$  auf  $120^\circ$  und das Fluid zeigt nach der Abtrennung von der Partikeloberfläche ein turbulentes Verhalten, was wiederum die Druckverteilung über der Sphäre derart verändert, dass es zu einem schlagartigen Abfall von  $C_D$  kommt, wie in Abbildung 2.4 dargestellt. Nach dem kritischen Übergang nimmt  $C_D$  wieder zu. Es überwiegen die Inertialkräfte und der Verlauf der Stromlinien wird durch die Eulerschen Gleichungen beschrieben, die zur sogenannten Potentialströmung führen, die hier aber nicht näher betrachtet wird. Eine ausführliche Beschreibung, auf die sich dieser kurze Abriss der Abhängigkeit von  $C_D$  von  $Re$  stützt, findet sich im Buch von R. Clift *et al.*<sup>10</sup>.

Um den in der Herleitung von Gleichung (2.21) vernachlässigten Kräften zumindest teilweise Rechnung zu tragen und so zu einer genaueren Formel für  $C_D$  und damit der Kraft auf das Partikel  $F_S$  zu kommen, benutzte C.W. Oseen<sup>11</sup> 1911 einen Trick. Er vernachlässigte die Zeitabhängigkeit und linearisierte die Navier-Stokes-Gleichung für inkompressible Strömung (2.11), indem er den Operator (2.4) ersetzte durch

$$\frac{D}{Dt^*} = \frac{\partial}{\partial t^*} + \vec{v}^* \cdot \vec{\nabla}^* \rightarrow A \cdot \vec{\nabla}^* \quad (2.43)$$

In Gleichung (2.43) ist  $A$  eine Konstante, mit Hilfe derer die Linearisierung erfolgt. C.W. Oseen gewann eine modifizierte Version des Strömungswiderstandskoeffizienten

$$C_D = \frac{24}{Re_p} + \frac{9}{2} \quad (2.44)$$

mit der er das konstante Plateau von  $C_D$  in Abbildung 2.4 beschreiben konnte.

Es wurde vielfach versucht, den Verlauf des Strömungswiderstandskoeffizienten in Abbildung 2.4 mit Hilfe von empirischen Formeln genauer zu beschreiben. Eine Übersicht dazu findet sich in R. Clift *et al.*<sup>10</sup>.

### 2.3.4. Resultierende Partikelgeschwindigkeit im kriechenden Fluss

P.G. Saffman bemerkt in seiner Veröffentlichung<sup>12</sup> von 1965, dass seine eigene, theoretische Arbeit<sup>13</sup> und die von F.P. Bretherton<sup>14</sup> aus dem Jahr 1962 zeigen, dass mit Hilfe der Gleichung der Kriechströmung (2.21) keine Kraft auf ein Partikel in  $y$ - oder  $z$ -Richtung (siehe Abbildung 2.3) hergeleitet werden kann, wenn die ungestörte Strömung unidirektional ist.

Daher wird im Folgenden zur genaueren Untersuchung der Geschwindigkeit eines frei beweglichen Partikels im kriechenden Fluss, das anfänglich ruht, nur die Geschwindigkeitskomponente  $u_p$  der Partikelgeschwindigkeit  $\vec{v}_p$  betrachtet. Für die Zugkraft auf ein Partikel wird nur die relative Geschwindigkeit  $U_{rel}$  zwischen der charakteristischen Geschwindigkeit  $U$  und der Partikelgeschwindigkeit  $u_p$  benötigt

$$U_{rel} = U - u_p \quad (2.45)$$

$U_{rel}$  wird in die Gleichung von Stokes (2.40) eingesetzt und es gilt für die auf das Partikel wirkenden Kräfte

$$m_p \frac{du_p}{dt} = F_S = 6\pi\mu U_{rel} R_p \quad (2.46)$$

Aus dieser Differentialgleichung gewinnen wir die Lösung

$$u_p(t) = U \left( 1 - e^{-\frac{9\mu}{2\rho R_p^2} t} \right) \quad (2.47)$$

Für ein frei bewegliches, sphärisches Partikel im kriechenden Fluss gilt also

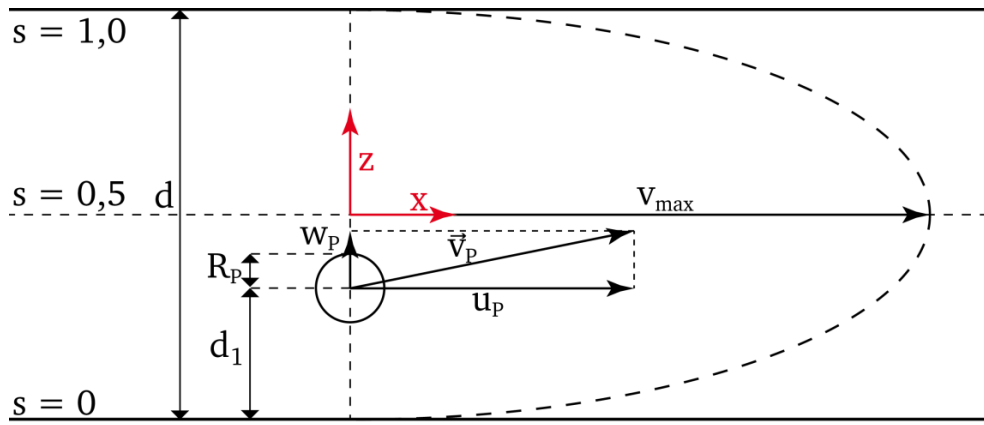
1. Es wird auf die charakteristische Geschwindigkeit  $U$  beschleunigt,
2. Es bewegt sich ausschließlich in Richtung der Strömung  $U$ ,
3. Je größer der Radius, desto langsamer erreicht das Partikel die charakteristische Geschwindigkeit  $U$ .

Der Radius ist die Größe, über die sich das Partikel an das Geschwindigkeitsvektorfeld der Strömung koppelt, wie es sich mit der Ladung im Falle des elektromagnetischen Feldes verhält. Die Auswirkung komplexerer Strömungen auf Partikel wird von den Theoretikern mit Hilfe der Störungstheorie behandelt.

### 2.4. Partikel im parabolischen Flussprofil

Für Partikel, die auf Grund der hydrodynamischen Fokussierung nur noch das von  $z$ -abhängige, parabolische Strömungsprofil (2.20) sehen, reicht es, den 2-dimensionalen Fall aus Abbildung 2.5 zu betrachten. Insbesondere dann, wenn das Verhältnis von Kanalhöhe und -breite  $d/w \rightarrow \infty$  geht, kann man diese Situation so verstehen, als wären es zwei unendlich ausgedehnte, planparallele Wände, die durch den Abstand  $d$  voneinander getrennt sind.

Ein Partikel mit dem Radius  $R_p$  befindet sich im Abstand  $d_1$  zur unteren Wand. Es wird ein dimensionsloser Parameter  $s = d_1/d$  festgelegt, über den der Abstand des Schwerpunkts des Partikels zur unteren Wand beschrieben wird. Die zu den Wänden parallele Mittelebene des Kanals liegt bei  $s = 0,5$ . Das Partikelverhalten unterhalb der Mittelebene ( $s \leq 0,5$ ) zu diskutieren reicht aus, da Spiegelsymmetrie zur Mittelebene herrscht.



**Abbildung 2.5** Es ist eine  $xz$ -Ebene aus Abbildung 2.1 skizziert, mit einem parabolischen Strömungsprofil (gestrichelte Linie) aus dem eingeschnürten Bereich von  $Q_p$  nach der hydrodynamischen Fokussierung. Die Skizze zeigt die Bemaßungen, die benötigt werden, um die Partikelbewegungen zu beschreiben.

Die Partikel werden nicht nur in  $x$ -Richtung auf eine Geschwindigkeit  $u_p$  beschleunigt, sondern sehen auch eine resultierende Kraft in  $z$ -Richtung, die zu einer Geschwindigkeitskomponente  $w_p$  führt, und die (kleinste) Partikel zu einer Gleichgewichtslage bei ungefähr  $s = 0,2$  treibt. Die in  $x$ -Richtung beschleunigende Kraft wird Zugkraft genannt, die in  $z$ -Richtung wird laterale Kraft genannt und die Translation in  $z$ -Richtung dementsprechend laterale Migration. Die laterale Migration tritt aber erst unter bestimmten Flussbedingungen auf.

#### 2.4.1. Experimentelle Untersuchungen der lateralen Migration

Schon 1928 wurde von R. Fåhræus<sup>15</sup> aufgrund von Blutuntersuchungen mit Kapillaren vermutet, dass eine am Rohreintritt gleichmäßige Verteilung der Partikelpositionen  $s$  über den Durchmesser während des Durchströmens eines Rohres verändert wird. Der experimentelle Nachweis geht auf Segré & Silberberg, 1961<sup>16</sup>, zurück und man nennt daher die laterale Migration von Partikeln zur Gleichgewichtslage auch Segré-Silberberg Effekt.

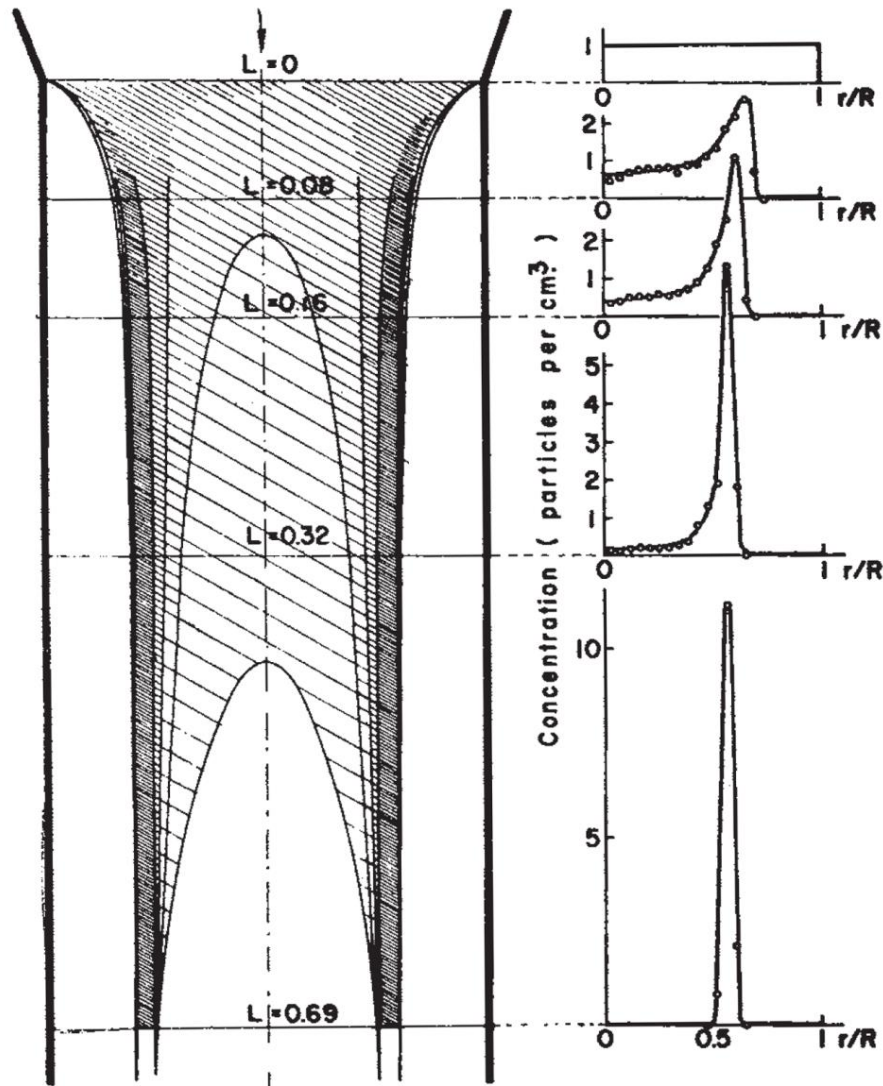
Für ihre Experimente verwendeten Segré und Silberberg eine Röhre mit einem Durchmesser von  $11,6 \text{ mm}$ , und Polymethylmetacrylat (PMMA) Partikel mit einem Durchmesser von  $0,8 \text{ mm}$  und  $1,6 \text{ mm}$ . Die Dichte des Fluids ( $\rho = 1,18 \text{ g/cm}^3$ ) wurde an die Dichte der Partikel angepasst, damit die Gewichtskraft keinen Einfluss auf das Transportverhalten hat. Die Viskosität des Fluids betrug  $\mu = 0,4 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ . Durch die Röhre strömten Segré und Silberberg Partikelsuspensionen mit unterschiedlichen Flussraten, die mittleren Geschwindigkeiten im Flussprofil lagen dabei im Bereich von  $0,05 \text{ m/s}$  bis  $0,9 \text{ m/s}$ <sup>17</sup>. Damit liegt  $Re_K$  in den Experimenten von Segré und Silberberg im Bereich von 1,7 bis 30,8. Mit Hilfe zweier rechtwinkliger, gekreuzter Lichtstrahlen wurden die Partikelpositionen  $s$  nach einer Laufstrecke  $L$  auf dem Rohrquerschnitt nachgewiesen. Die Länge der Laufstrecke  $L$  konnte variiert werden. Das Ergebnis ihrer Untersuchungen haben sie mit Abbildung 2.6 verdeutlicht.

Auf der linken Seite ist das Rohr mit Radius  $R$  skizziert. Die Länge  $L$  ist eine vom Rohreintritt ab gemessene Laufstrecke, die folgendermaßen normiert wird

$$L = \frac{R_p}{R} \frac{\rho R_p U}{\mu} \frac{l}{R} \quad (2.48)$$

$$U = \left( \frac{R_p}{R} \right)^2 \langle v \rangle \quad (2.49)$$

Der Term  $\rho R_p U / \mu$  ist die Partikelreynoldszahl, in der die charakteristische Geschwindigkeit entsprechend Gleichung (2.49) gewählt ist. Die schraffierten Flächen sind Bereiche, in denen sich Partikel aufhalten. Je dichter die Schraffur, desto höher die Partikelkonzentration. Die Häufigkeitsverteilungen rechts neben der Rohrskizze sind an den jeweiligen Positionen  $L$  gemessen, die durch die waagerechten, gestrichelten Linien angezeigt werden. Die Verteilungen haben Segré und Silberberg über das Verhältnis  $r/R$  aufgetragen. Eine Umrechnung in  $s$  kann mittels  $r/R = 1 - 2s$  erfolgen.



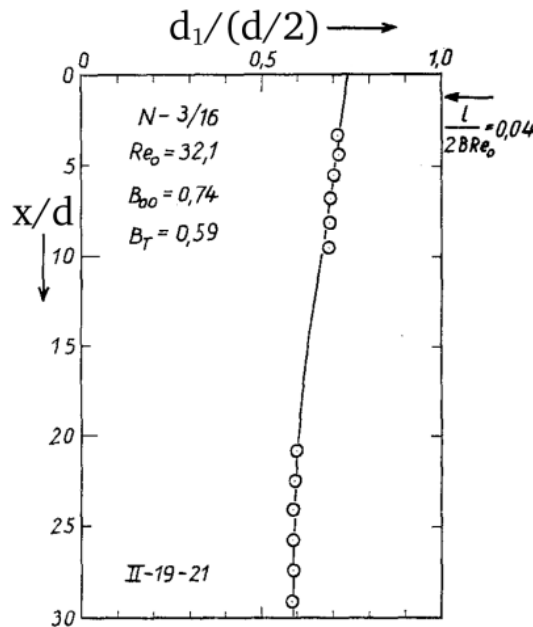
**Abbildung 2.6** Darstellung von Segré und Silberberg<sup>18</sup>: Es zeigt, wie die am Anfang der Röhre ( $L = 0\text{m}$ ) des experimentellen Aufbaus gleichmäßig über den Rohrquerschnitt verteilten Partikel während des Durchströmens an der Position  $0,6 \cdot R$  aufkonzentriert werden.

Die oberste Verteilung in Abbildung 2.6 bei  $L = 0$  zeigt, was mit einer gleichmäßigen Verteilung am Rohreintritt über die Partikelposition  $s$  gemeint ist. Während des Durchströmens des Rohres unter den oben genannten Bedingungen findet eine laterale Migration statt, die zu einer Aufkonzentration auf einem Annulus um die Rohrachse führt. Nach einer Strecke von  $L = 0,69$  hat dieser Annulus einen inneren Radius von  $0,6 \cdot R$  und eine Dicke von  $0,1 \cdot R$  erreicht und ändert sich für  $L > 0,69$  nicht mehr signifikant. Umgerechnet auf  $s$  ergibt das eine Position  $s = 0,2$  für die Gleichgewichtslage der Partikel im mikrofluidischen Kanal. Segré und Silberberg nannten den Effekt „tubular pinch effect“, was heute aber nicht mehr gebräuchlich ist.



Die Entdeckung von Segré und Silberberg führte zu weiteren, experimentellen Untersuchungen<sup>19,20,21,22</sup>, die sich mit Partikeln im parabolischen Strömungsprofil von Rohren beschäftigten. Die Veröffentlichung von M. Tachibana<sup>23</sup> soll hier genauer betrachtet werden, da dort erstmals Partikel im parabolischen Strömungsprofil eines Kanals mit quadratischem Querschnitt fotografiert wurden, so dass Aussagen zur Rotation der Partikel möglich wurden und Partikeltrajektorien skizziert werden konnten.

Die Seitenlänge  $d$  des Querschnitt betrug  $30\text{ mm}$  und die Gesamtlänge des Kanals betrug  $130\text{ cm}$ . Die Partikel mit Größen im Bereich von  $2,38\text{ mm}$  bis  $6,35\text{ mm}$  untersuchte er unter fluidischen Bedingungen mit Kanalreynoldszahlen  $Re_K$  von ungefähr 15 bis 70. Bei diesen Untersuchungen gewann er die Erkenntnis, dass das in Abbildung 2.5 skizzierte Partikel im Uhrzeigersinn rotiert. Befindet es sich im Bereich zwischen der Gleichgewichtslage und der Wand, rotiert es schneller als im Bereich zwischen der Mittelebene und der Gleichgewichtslage. Eine aus der Veröffentlichung von M. Tachibana<sup>24</sup> entnommene Partikeltrajektorie ist in Abbildung 2.7 gezeigt. Die Notation in dieser Abbildung wird im Folgenden erläutert.



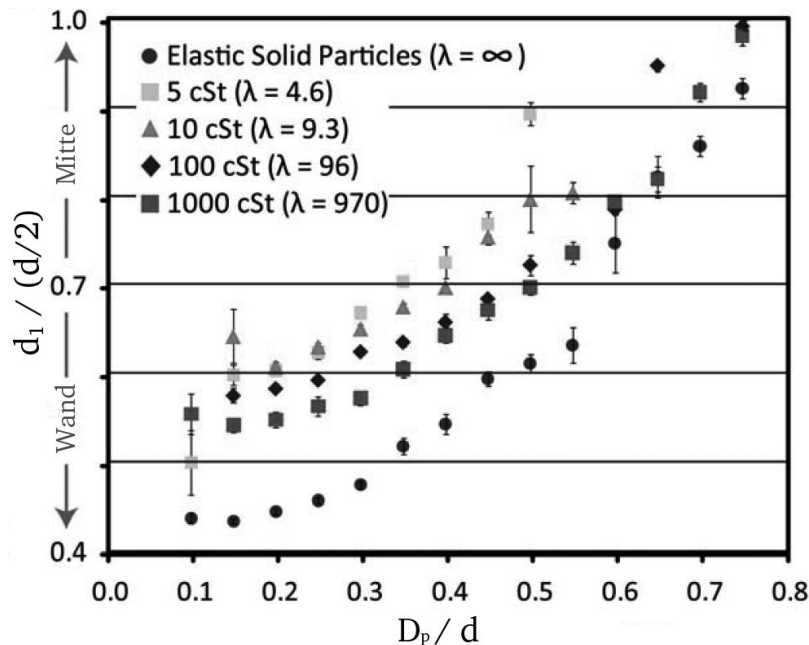
**Abbildung 2.7** Gezeigt ist eine Abbildung aus der Veröffentlichung von M. Tachibana<sup>24</sup>, die eine Partikeltrajektorie (durchgezogene Linie) zeigt. Diese Trajektorie wurde aus den Messwerten (Kreise) extrapoliert. Zum besseren Verständnis wurde die ursprüngliche Achsenbeschriftung durch die Notation dieser Arbeit ersetzt.

Die gemessenen, lateralen Positionen  $d_1/(d/2)$  (Kreise) der Partikel der Sorte N-3/16 ( $D_p = 4,76\text{ mm}$ ) in Abhängigkeit von der normierten Position in Strömungsrichtung  $x/d$  wurden bei einer Kanalreynoldszahl von  $Re_K = 32,1$  gemessen. Eine an diese Messwerte angepasste Kurve zeigt die Partikeltrajektorie (durchgezogene Linie), die Kanaleintrittsposition beträgt  $B_{00} = 0,74$  ( $s = 0,13$ ) und die Gleichgewichtslage liegt bei  $B_T = 0,59$  ( $s = 0,205$ ). Die Berechnung  $l/2BRe_0 = 0,04$ , am rechten, oberen Rand der Abbildung 2.7, markiert das theoretische Ende der Einlaufstrecke, ab dem das parabolische Strömungsprofil voll entwickelt ist.

Die Gleichgewichtslage bei  $s = 0,205$  bestätigt im Rahmen der Messfehler die Ergebnisse von Segré und Silberberg ( $s = 0,2$ ). Die Partikeltrajektorie weg von der Wand hin zur Gleichgewichtslage hat eine asymptotische Form und umgerechnet in Einheiten brauchen diese Partikel bis zum Erreichen der Gleichgewichtslage eine Laufstrecke in  $x$ -Richtung von  $l_{GG} = 0,9\text{ m}$ .

2009 haben D. Di Carlo *et al.*<sup>5</sup> für starre Partikel die Abhängigkeit der Gleichgewichtslage vom Partikeldurchmesser nachgewiesen und 2011 haben Hur *et al.*<sup>4</sup> die Abhängigkeit der Gleichgewichtslage vom Partikeldurchmesser  $D_p$  sowohl für starre Partikel bestätigt als auch für verformbare Partikel nachgewiesen. Bei den Untersuchungen von D. Di Carlo *et al.* konnte keine Abhängigkeit der Geschwindigkeit von Partikeln in ihrer Gleichgewichtslage vom Partikeldurchmesser  $D_p$  festgestellt werden.

Hur *et al.* verwendeten für ihre Messungen einen rechteckigen Mikrokanal mit einer Höhe von  $38\ \mu\text{m}$  und einer Breite von  $85\ \mu\text{m}$ . Die Partikeldurchmesser variierten zwischen  $3,8\ \mu\text{m}$  und  $27,36\ \mu\text{m}$ . Die Partikel sind in einer Mischung von deionisiertem Wasser und 3% w/v Polysorbat 80 suspendiert, die Viskosität und Dichte des Fluids ist damit näherungsweise die von deionisiertem Wasser und das Experiment, das zu ihrem Ergebnis in Abbildung 2.8 führte, wurde bei einer Kanalreynoldszahl von  $Re_K = 21$  ausgeführt. Die Partikelpositionen wurden fotografisch gemessen und von Hur *et al.* auf die halbe Kanalbreite normiert. Die Umrechnung zu  $s$  erfolgt daher über den Faktor  $1/2$ .



**Abbildung 2.8** Die hier aufgeführten Originalergebnisse von Hur *et al.*<sup>25</sup> aus dem Jahr 2011 zeigen die experimentell bestimmten Gleichgewichtspositionen über der  $z$ -Achse sowohl für starre Partikel ( $\lambda = \infty$ ) als auch für verformbare Öltröpfchen ( $\lambda = \text{Wert}$ ). Der Wert von  $\lambda$  ergibt sich aus dem Verhältnis der Viskosität des Öltröpfchens und der Viskosität des deionisierten Wassers. Aus den im Text gegebenen Werten können die absoluten Zahlen für die Partikelgröße und die Position im Kanal berechnet werden.

Die Abhängigkeit der Gleichgewichtslage von  $D_p$  für starre Partikel mit  $\lambda = 0$  sieht man deutlich. Die Gleichgewichtslage der kleinsten Partikel bei  $D_p/d = 0,1$  findet sich bei  $s = 0,22$  ( $d_1/(d/2) = 0,44$ ). Für größere  $D_p/d$  wandert die Gleichgewichtslage zu größeren  $s$ , d.h. die Gleichgewichtslage des Partikelschwerpunkts wandert näher zur Mittelebene. Für verformbare Partikel (Öltröpfchen) wurde festgestellt, dass mit zunehmender Verformbarkeit der Partikel (d.h. mit abnehmender Viskosität der Partikel), die Gleichgewichtslage näher an der Mittelebene liegt. Der Grund für dieses Verhalten liegt eben in einer Verformung der Partikel. Dies haben 1962 Goldsmith und Mason in ihrer Veröffentlichung<sup>19</sup> nachgewiesen, indem sie für verformbare Partikel eine Kraft herleiten konnten, die für starre Partikel nicht existiert. Sie stellen fest, dass bei verformbaren Partikeln „(...) eine Nettokraft wirkt, die den Tropfen hin zu einem geringeren Gradienten drückt“ [Übersetzt aus dem Englischen vom Autor, aus

Goldsmith und Mason<sup>19</sup>, S. 473, Zeile 2]. Diese Kraft wirkt also in Richtung der Mittelebene, da in diese Richtung der Geschwindigkeitsgradient abnimmt.

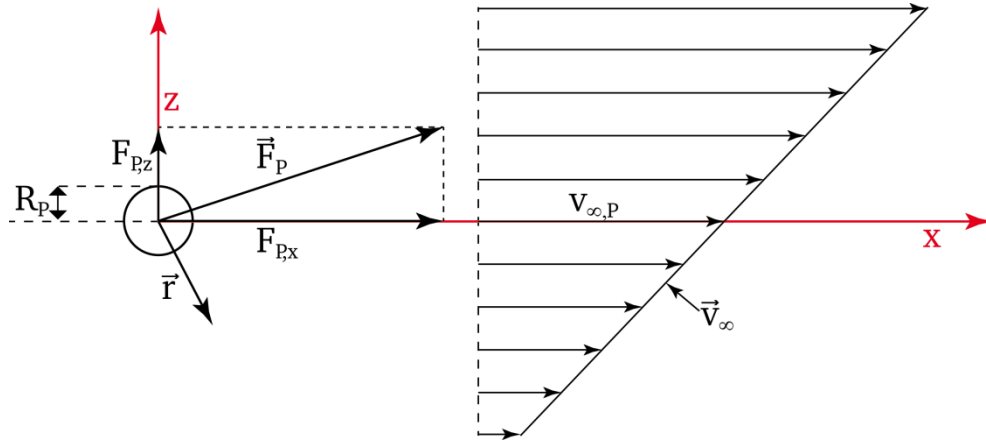
#### 2.4.2. Theoretische Untersuchungen der lateralen Migration

In seiner Veröffentlichung von 1965 erklärt P.G. Saffman, dass der Effekt der lateralen Migration, wie sie Segré und Silberberg beobachtet haben, sowohl durch die Inertialkraft des Fluids als auch durch die den Fluss begrenzenden Wände verursacht werden muss, da die Gleichungen des kriechenden Flusses diesen Effekt nicht erklären können.

Die Auswirkungen der Wände untersucht er 1965 genauer und stellt dazu zwei Thesen auf:

1. Die Wände verursachen eine zusätzliche Kraft, die das Partikel abbremst und dafür sorgt, dass es sich langsamer bewegt als das umgebende Fluid.
2. Die Strömung um das Partikel wird durch die Nähe zu einer Wand verändert.

Aufgrund der Komplexität beider Effekte im Zusammenspiel untersucht P. G. Saffman nur die erste These genauer. Dazu verändert er die Bedingungen aus Abbildung 2.5 zu denen in Abbildung 2.9.



**Abbildung 2.9** Skizziert sind die Bedingungen der theoretischen Untersuchung von P.G. Saffman aus seiner Veröffentlichung von 1965. Das Strömungsfeld ist unendlich ausgedehnt, und für den Fall  $x \rightarrow \infty$  gezeigt ( $v_{\infty}$ ). Dort wird die Strömung nicht vom Partikel beeinflusst.

Im Unendlichen ( $\vec{r} \rightarrow \pm\infty$ ) ist die unendlich ausgedehnte Strömung  $\vec{v}_{\infty}$  unidirektional in  $x$ -Richtung, da das Partikel die Strömung nicht stört. Diese Strömung macht er nun über einen konstanten Gradienten  $\kappa$  von  $z$  abhängig, so dass gilt

$$\vec{v}_{\infty} = \begin{pmatrix} \kappa z \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.50)$$

Die Partikelgeschwindigkeit in  $x$ -Richtung  $u_P$  unterscheidet sich von der Strömungsgeschwindigkeit am Ort des Zentrums des sphärischen Partikels  $v_{\infty,P}$  um den Betrag  $u_{rel}$

$$u_{rel} = v_{\infty,P} - u_P \quad (2.51)$$

Damit die Inertialkraft berücksichtigt bleibt, verwendet er den zeitunabhängigen Teil von Gleichung (2.9)

$$\rho(\vec{v} \cdot \vec{\nabla})\vec{v} = -\vec{\nabla}p + \mu\Delta\vec{v} \quad (2.52)$$

mit den Randbedingungen

$$\vec{v} \rightarrow \vec{v}_\infty, \quad \vec{r} \rightarrow \infty \quad (2.53)$$

$$\vec{v} = \vec{\omega}_p \times \vec{r}, \quad |\vec{r}| = R_p \quad (2.54)$$

Die Bedingung (2.53) erzwingt, dass das Geschwindigkeitsfeld  $\vec{v}$  des Fluids weit entfernt vom Partikel zum ungestörten Geschwindigkeitsfeld  $\vec{v}_\infty$  werden muss.

Dem Partikel wird eine Rotation um die y-Achse erlaubt

$$\vec{\omega}_p = \begin{pmatrix} 0 \\ \omega \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.55)$$

Die Bedingung (2.54) erzwingt, dass die Strömungsgeschwindigkeit des Fluids die Bahngeschwindigkeit auf der Oberfläche des Partikels annimmt.

Mit der Methode der asymptotischen Entwicklung (vergleiche E.J.Hinch<sup>26</sup>) gelingt es P.G. Saffman, die Kraft  $\vec{F}_p$  auf das Partikel herzuleiten.  $F_{p,x}$  ist gleich der Zugkraft im kriechenden Fluss  $F_S$  (2.40). Die laterale Kraftkomponente  $F_{p,z}$ , die in positive z-Richtung zeigt, hat den Betrag

$$F_{p,z} = 81,2 \cdot u_{rel} R_p^2 \sqrt{\kappa \rho \mu} + O(\sqrt{\rho \mu}) \quad (2.56)$$

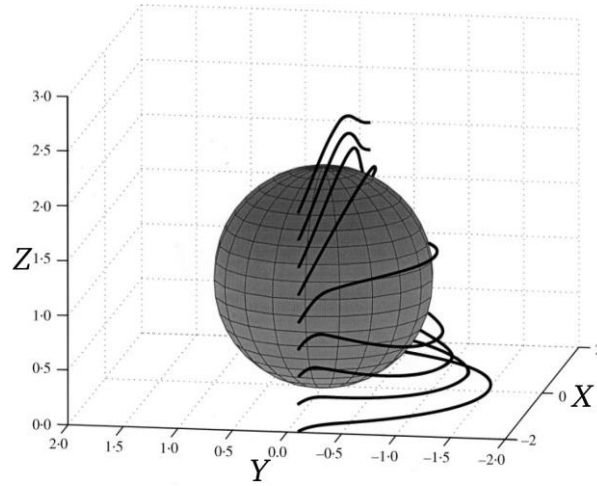
Aus Gleichung (2.51) für  $u_{rel}$  folgt, dass die Kraft positiv wäre und das Partikel in Richtung der z-Achse zu höheren Geschwindigkeiten getrieben würde, wenn das Partikel langsamer wäre als  $v_{\infty,p}$  (vgl. Abbildung 2.9). Gäbe es eine unbewegte Wand, so müsste sich diese unterhalb des skizzierten Partikels aus Abbildung 2.9 befinden, da nur diese Anordnung auf Grund des Gradienten physikalisch sinnvoll wäre. These 1 von P.G. Saffman, dass das Partikel durch die Anwesenheit der darunterliegenden Wand verzögert ist, führt also zu einer lateralen Kraft, die das Partikel von der Wand wegtreibt (in positive z-Richtung), was auch in der Realität beobachtet wird. Diese Kraft nennt man Wandkraft und die durch sie verursachte laterale Migration wird im Folgenden Wandmigration genannt.

Da P.G. Saffman keine Wände zur Verfügung stehen, definiert er eine Partikelreynoldszahl mit Hilfe des Gradienten  $\kappa$ . Aufgrund der in der Entwicklung gemachten Näherungen und den vernachlässigten höheren Ordnungen ist die Wandkraft (2.56) nur für Partikelreynoldszahlen

$$Re_p = \frac{\rho \kappa R_p^2}{\mu} \ll 1 \quad (2.57)$$

gültig, d.h. für sehr geringe Scherraten, in denen der Gradient flach ist.

Die sich aufdrängende Frage ist, warum ein Partikel durch die Anwesenheit einer Wand gegenüber dem Fluss verzögert sein soll. Die Antwort darauf steckt in P.G. Saffmans 2.These, nach der die Strömung um ein Partikel durch die Wand verändert wird, was schon beim kriechenden Fluss beobachtet werden kann. Die im Jahre 2003 veröffentlichte Studie von M. Chaoui und F. Feuillebois<sup>27</sup> zeigt dies. Der kriechende Fluss hat einen linearen Gradienten wie in Abbildung 2.9. Das frei bewegliche sphärische Partikel ist nah zu einer unendlich ausgedehnten ebenen Wand. Für ihre Untersuchungen verwendeten sie bisphärische Koordinaten und entwickelten nach Kugelflächenfunktionen. Diese Methode wird hier nicht genauer erläutert, es wird auf die Veröffentlichung von M. Chaoui und F. Feuillebois verwiesen. Das Ergebnis für einige Volumenstromlinien  $\psi$  aus ihrer Veröffentlichung ist in der 3D-Skizze von Abbildung 2.10 gezeigt.



**Abbildung 2.10** Das Bild ist entnommen aus der Veröffentlichung von M. Chaoui und F. Feuillebois<sup>28</sup>. Es zeigt die Volumenstromlinien  $\psi$  um ein frei bewegliches Partikel, das sich in der Nähe einer unendlich ausgedehnten, ebenen Wand bewegt. Die Wand liegt in der  $YX$ -Ebene bei  $Z = 0$ .

Die von M. Chaoui und F. Feuillebois verwendeten Koordinaten sind einheitenlos, da sie auf den Partikelradius normiert sind

$$X = \frac{x}{R_p}, Y = \frac{y}{R_p}, Z = \frac{z}{R_p} \quad (2.58)$$

Die Wand liegt in der Ebene, die von  $X$  und  $Y$  aufgespannt wird, bei  $Z = 0$ . Der Partikelschwerpunkt liegt bei  $X = 0, Y = 0, Z = 1$ . Die gezeigten Volumenstromlinien beginnen immer bei  $X = -2, Y = -0,1$ . In  $Z$ -Richtung beginnt die unterste Stromlinie bei  $Z = 0,002$ , die nächst höhere bei  $Z = 0,25$ , was dann sukzessive um  $0,25$  bis zu  $Z = 0,2$  erhöht wird.

Abbildung 2.10 zeigt deutlich, wie das Fluid nicht in den schmalen Spalt ( $\Delta Z = 1,0 \cdot 10^{-3}$ ) zwischen Partikel und Wand bei  $X = 0, Y = 0$  einfließt. Es weicht dem Spalt in  $y$ -Richtung aus. M. Chaoui und F. Feuillebois weisen nach, dass in diesem schmalen Spalt ein Bereich existiert, in dem die Strömung relativ zum Partikel vollständig zum Erliegen kommt. Aufgrund dieses Ausweichens ist das Partikel relativ zu  $v_\infty$  verzögert, was die Wandkraft hervorruft.

Für  $Re_K \ll 1$  und  $R_p/d \ll 1$  zeigten 1968 R.G. Cox und H. Brenner<sup>29</sup> einen Weg auf, der zwar auf der Veröffentlichung von P.G. Saffman beruht, mit dem aber eine Formulierung für die Kraft  $\vec{F}_p$  auf ein Partikel, das von Wänden begrenzten (beliebigen) Scherströmungen ausgesetzt ist, gewonnen werden kann. Sie nahmen das Partikel als ruhend an, so dass die Wände eine Geschwindigkeit  $v_W$  haben. R.G. Cox und H. Brenner führten zusätzlich eine weitere Randbedingung ein

$$\vec{v} = v_W, \quad r = \frac{h}{2} \quad (2.59)$$

Sie erzwingt, dass die Strömung an der Stelle der Wände die Geschwindigkeit  $v_W$  dieser hat. Auch sie benutzten die asymptotische Entwicklung. Die Formulierung ihrer Gleichungen bleibt allerdings allgemein gehalten. Die Ausdrücke für die Kraft  $\vec{F}$  und die Geschwindigkeit  $\vec{v}_p$  enthalten Volumenintegrale, in denen die Greensche Funktion des schleichenden Flusses zu finden ist. R.G. Cox und H. Brenner haben diese Volumenintegrale nicht ausgerechnet und von daher sind diese Gleichungen für die Lösung konkreter Probleme nicht verwendbar.

Dies änderten B.P. Ho und L.G. Leal 1974<sup>30</sup>. Bis auf die Verwendung der Methode der Reflexion statt der asymptotischen Entwicklung um  $Re_K$  und  $s$  basiert ihre Vorgehensweise auf der

von R.G. Cox und H. Brenner. Sie fanden eine Näherung für die laterale Kraft auf ein Partikel in einer parabolischen Strömung, die von zwei planparallelen, unendlich ausgedehnten Wänden begrenzt wird, wie sie in Abbildung 2.5 skizziert ist.

$$F_{p,z} = \frac{\rho \langle v \rangle^2 R_p^4}{d^2} (36(1-2s)^2 f_1(s) - 36(1-s) f_2(s)) \quad (2.60)$$

Die Funktionen  $f_1$  und  $f_2$  sind von  $s$  abhängig und werden von B.P. Ho und L.G. Leal numerisch berechnet. Die Werte sind tabelliert in ihrer Veröffentlichung zu finden. In einer ersten Untersuchung finden sie, dass der erste Term, der  $f_1$  enthält, die schon diskutierte Wandkraft repräsentiert, die die Partikel zur Mittelebene treibt. Der zweite Term, der  $f_2$  enthält, wird durch die Inertialkraft des Fluids verursacht und treibt Partikel in Richtung der Wand. Die auf den Vorfaktor normierte laterale Kraft  $F_{p,z}$  (2.60) ist in Abbildung 2.11 gegen  $s$  aufgetragen.

Man sieht, dass drei Gleichgewichtspositionen existieren ( $F_{p,z} = 0$ ). Eine in der Mitte des Kanals, eine bei  $s = 0,2$  und eine bei  $s = 0,8$ . Die letzten zwei Gleichgewichtspositionen liegen bei den von Segré und Silberberg gemessenen Werten. Sehr nah an den Wänden wird die von der Wand wegtreibende Kraft unendlich. Zwei weitere Kraftmaxima finden sich zwischen den Gleichgewichtslagen und der Mittelebene und sind Maxima der Inertialkraft. Das träge Fluid schiebt die Partikel förmlich „aus dem Weg“. Migration aufgrund der Inertialkraft wird im Folgenden Inertialmigration genannt. Ist  $F_{p,z}$  negativ, zeigt sie entgegen  $s$ , ist sie positiv, in Richtung von  $s$ .

Durch die Integration der lateralen Kraft  $F_{p,z}$  über  $s$  finden B.P. Ho und L.G. Leal die laterale Geschwindigkeitskomponente  $w_p$ . Da  $R_p/d \ll 1$  gilt, ist die Störung des Strömungsprofils durch das Partikel gering, und die Geschwindigkeitskomponente  $u_p$  wird gleich der Geschwindigkeit der parabolischen Strömung am Ort  $z$  des Partikelschwerpunkts  $v_{\infty,p}$  gesetzt. Es folgt die Laufstrecke  $\Delta l$  des Partikels von einem Eintrittsort  $s_0$  in die Strömung bis zu einer Position  $s$  durch Integration

$$\Delta l = \frac{\Delta l' d^4}{Re_K R_p^3} = 36\pi \int_{s_0}^s \frac{s'(1-s')}{G(s')} ds' \quad (2.61)$$

Die Funktion  $G(s')$  ist numerisch berechnet worden. Mit dem Ergebnis (2.61) haben sie zwei Partikeltrajektorien errechnet und in der Veröffentlichung von 1974 skizziert, die in Abbildung 2.12 gezeigt sind.

Die Partikeltrajektorie der Wandmigration  $T_{wm}$  beginnt bei  $s_0 = 0,01$ . Die angenommene Partikelgröße ist so klein, dass eine solche Nähe zur Wand möglich ist. Nach  $\Delta l' = 0,49$  erreicht die asymptotische Partikeltrajektorie die Gleichgewichtslage bei  $s = 0,22$ . Die Partikeltrajektorie der Inertialmigration  $T_{im}$ , die nah zur Mittelebene bei  $s_0 = 0,49$  beginnt, braucht eine wesentlich längere Strecke  $\Delta l' = 1,7$ , um die Gleichgewichtslage zu erreichen. Aufgrund der schwachen, lateralen Kraft  $F_{p,z}$  in der Nähe zur Mittelebene (vgl. Abbildung 2.11) ist die Inertialmigration sehr gering und gewinnt erst bei deutlichem Abstand zu dieser „an Geschwindigkeit“.

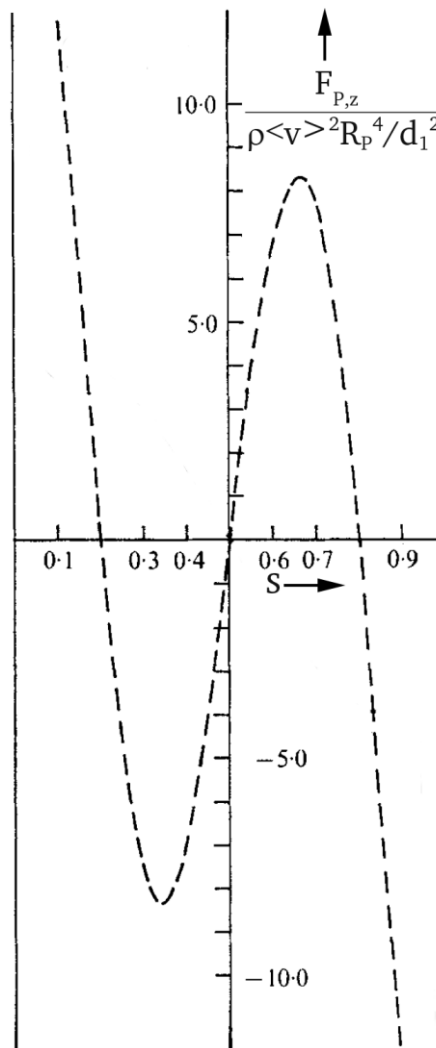


Abbildung 2.11 Das Originalbild aus der Veröffentlichung von B.P. Ho und L.G. Leal von 1965<sup>31</sup>, das die von ihnen hergeleitete, laterale und normierte Kraft  $F_{p,z}$  für ein Partikel im parabolischen Fluss über die Position im Kanal  $s$  aufgetragen zeigt. Das im Originalbild enthaltene Ergebnis für lineare Scherströmung wurde vom Autor der Einfachheit halber entfernt.

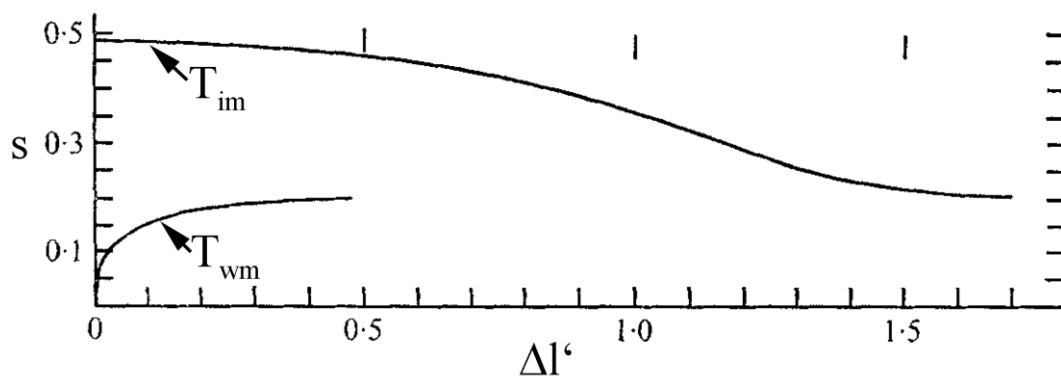
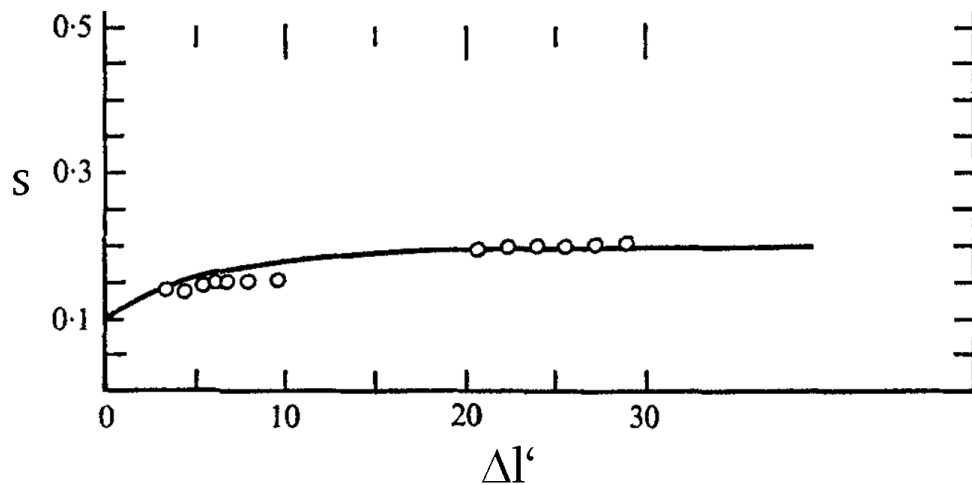


Abbildung 2.12 Die von B.P. Ho und L.G. Leal berechneten Partikeltrajektorien für Wandmigration ( $T_{wm}$ ) und Inertialmigration ( $T_{im}$ ). Die Wandmigration ( $T_{wm}$ ) beginnt bei  $s_0 = 0,01$  und die Inertialmigration ( $T_{im}$ ) beginnt bei  $s_0 = 0,49$ . Die Trajektorien enden beim Erreichen der Gleichgewichtslage. Das Bild ist aus der Veröffentlichung von 1974 entnommen<sup>31</sup>.

Die Ergebnisse von M. Tachibana (vgl. Abbildung 2.7) können mit der Theorie von B.P. Ho und L.G. Leal beschrieben werden. Dazu setzten sie die realen Messbedingungen (beschrieben in Kapitel 2.4.1) in ihre Gleichung (2.61) ein. Das Ergebnis, das aus der Veröffentlichung entnommen wurde, ist in Abbildung 2.13 zu sehen.



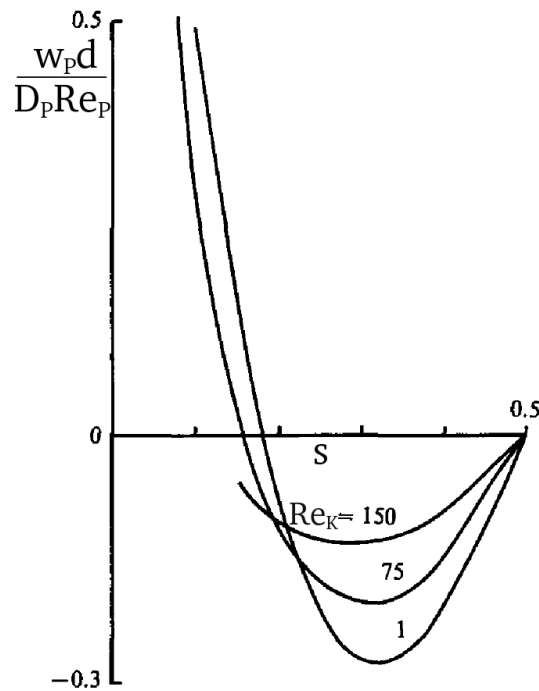
**Abbildung 2.13** Die Partikeltrajektorie ist mit der Gleichung (2.61) mit Hilfe der experimentellen Bedingungen von M. Tachibana berechnet. Man sieht, dass die experimentell ermittelten Partikelpositionen (Kreise, siehe Abbildung 2.7) von der theoretischen Kurve weitestgehend getroffen werden. Der Vergleich wurde aus der Veröffentlichung von B.P. Ho und L.G. Leal aus dem Jahr 1974 entnommen<sup>31</sup>.

Die Ergebnisse von R.G. Cox und H. Brenner von 1968 wurden 1976 durch P. Vasseur und R.G. Cox<sup>32</sup> und 1977 durch R.G. Cox und S.K. Hsu<sup>33</sup> aufgegriffen und für Partikel im parabolischen Fluss bestätigt. S. Yahiaoui und F. Feuillebois<sup>34</sup> veröffentlichten 2010 einen Vergleich der Partikeltrajektorien von B.P. Ho und L.G. Leal, P. Vasseur und R. G. Cox, R.G. Cox und S.K. Hsu und ihren eigenen Daten. Die Ergebnisse zeigen, dass die Messungen von Segré und Silberberg und von M. Tachibana am besten von der Theorie von B.P. Ho und L.G. Leal beschrieben werden.

1989 erweiterten J.A. Schonberg und E.J. Hinch<sup>35</sup>, aufbauend auf den Ergebnissen von R.G. Cox und H. Brenner, sowie B.P. Ho und L.G. Leal mit der Methode der asymptotischen Entwicklung die bisherigen Formulierungen auf Kanalreynoldszahlen  $Re_K < 150$ . Dies war bisher nicht möglich, da sich für  $Re_K \approx 1$  das sogenannte „Whitehead Paradoxon“ ergibt. Das heißt, nur die führende Ordnung der Entwicklung erfüllt die Randbedingungen. Der von J.A. Schonberg und E.J. Hinch formulierte Ausdruck für  $w_p$  enthält wieder numerisch zu ermittelnde Integrale und wird hier deshalb nicht explizit aufgeführt, die Ergebnisse dieser Arbeit sind in Abbildung 2.14 aufgetragen.

Man sieht deutlich, dass J.A. Schonberg und E.J. Hinch eine leichte Verschiebung der Gleichgewichtslage ( $w_p = 0$ ) mit größer werdender Kanalreynoldszahl  $Re_K$  in Richtung der Kanalwand berechnen. Für  $Re_K > 150$  hat E. S. Asmolov<sup>36</sup> diesen Lösungsweg erweitert. Seine Veröffentlichung wird der Vollständigkeit halber erwähnt, hat für diese Arbeit aber keine Relevanz.





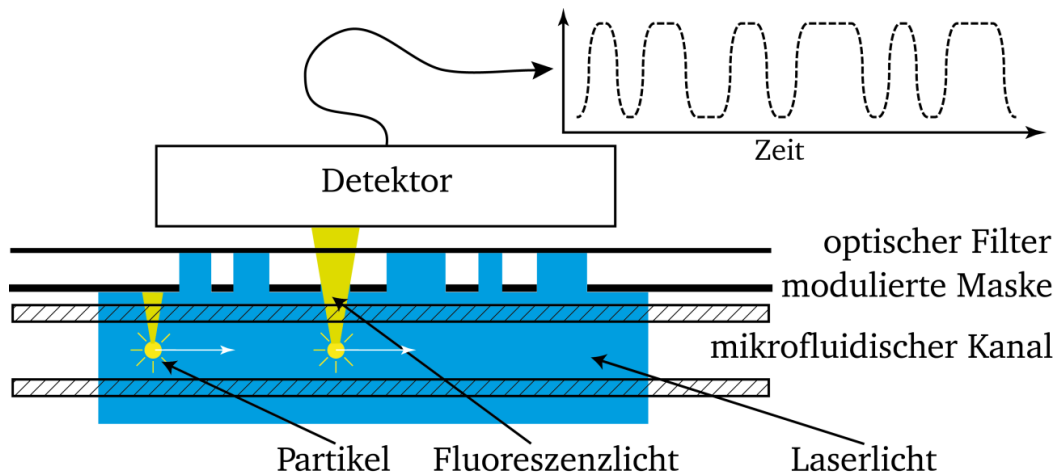
**Abbildung 2.14** Die Ergebnisse von J.A. Schonberg und E.J. Hinch von 1989 für verschiedene Kanalreynoldszahlen. Man sieht die normierte, laterale Geschwindigkeit  $w_p$  eines Partikels im parabolischen Fluss aufgetragen gegen die Position  $s$ . Das Bild ist entnommen aus der Veröffentlichung<sup>37</sup>.

Eine Theorie, die die Abhängigkeit der Gleichgewichtslage  $s$  vom Partikeldurchmesser  $D_p$  (Hur *et al.*, 2011) berücksichtigt, ist dem Autor bisher nicht bekannt. Alle theoretischen Studien betrachten nur kleine  $R_p/d$ -Verhältnisse. Daher ist auch die Partikelgeschwindigkeit  $u_p$  in allen theoretischen Untersuchungen mit  $v_{\infty,p}$  genähert worden. Die Geschwindigkeit  $u_p$  muss aber für größere  $R_p/d$ -Verhältnisse auch von eben diesem Verhältnis abhängen, da die Existenz des Partikels das umgebende Strömungsprofil beeinflusst.



### 3. Experimentelle Grundlagen

Das in der Einleitung bereits beschriebene Grundprinzip der RMF-Technik ist in Abbildung 3.1 skizziert.



**Abbildung 3.1** Die Skizze zeigt den prinzipiellen Aufbau der RMF-Technik. Durch Laserlicht zum Fluoreszieren angeregte Partikel, die mit konstanter Geschwindigkeit durch einen mikrofluidischen Kanal strömen, erzeugen auf Grund der modulierten Maske ein zeitlich modulierte Signal, wie oben rechts in der Skizze gezeigt. Der optische Filter trennt das Fluoreszenzlicht vom Laserlicht.

Partikel oder Zellen werden von einem Fluid durch einen mikrofluidischen Kanal transportiert. Sie erreichen einen vom Laser ausgeleuchteten Bereich des Kanals, der Detektionszone genannt wird. Der Farbstoff in den Partikeln oder Zellen wird vom Laserlicht zum Fluoreszieren angeregt. Dieses Fluoreszenzlicht wird vom Laserlicht durch einen optischen Filter getrennt und von einem Detektor registriert. Zwischen Partikel und Detektionszone befindet sich eine aus abwechselnd transparenten und opaken Bereichen bestehende Maske; man nennt sie räumlich moduliert. Der Detektor registriert nur dann Fluoreszenzlicht, wenn das Partikel unter einem transparenten Bereich der Maske hindurchströmt, sonst wird das Fluoreszenzlicht abgeblockt. Dies führt zu einem zeitlich modulierten Signal im Detektor wie in Abbildung 3.1, rechts oben, gezeigt.

Der erste Schritt zum experimentellen Aufbau ist die Herstellung eines mikrofluidischen Plastikchips, der den gestellten Anforderungen (z.B. Kanalhöhe, Druckstabilität,...) genügt. Der Chip ist aus Plastik gefertigt, damit demonstriert wird, dass er in einem kommerziell vertriebenen Gerät als Einwegteil genutzt werden kann. Dadurch werden Kosten und Aufwand reduziert, weil die Kanäle des Chips nicht gespült werden müssen. Die bereits angesprochenen Anforderungen an den Chip werden in Kapitel 3.1 konkretisiert, die Funktionsweise des Chips wird erläutert, der Herstellungsprozess beschrieben und zum Schluss wird die Qualität des Herstellungsprozesses diskutiert.

Der fertige Chip wird in einen optischen Aufbau integriert, mit Hilfe dessen die modulierten Signale gewonnen werden. Der optische Aufbau wird in Kapitel 3.2 besprochen.

Die Auswertung der aus dem Aufbau gewonnenen Signale erfolgt bei der RMF-Technik durch das Berechnen von Kreuzkorrelationen. Die Prozedur der Signalauswertung, wie sie für diese Arbeit entwickelt wurde, wird ausführlich in Kapitel 3.3 erläutert. Anhand der Methoden der Signalauswertung werden auch die Vorteile und Besonderheiten der RMF-Technik erläutert.

---

### 3.1. Der mikrofluidische Chip

Die grundlegende Anforderung an den mikrofluidischen Chip ist es, einzelne Partikel oder Zellen über eine lange Laufstrecke einem konstanten, parabolischen Strömungsprofil (2.20) auszusetzen. So soll erreicht werden, dass die Partikel, unabhängig von ihrer Startposition  $s$ , eine einheitliche Gleichgewichtsposition im Kanal erreichen, um die resultierende Gleichgewichtsgeschwindigkeit des Partikels/der Zelle mit der RMF-Technik zu vermessen. Im Folgenden wird nur noch von Partikeln gesprochen, da deren Untersuchung der Hauptbestandteil der Arbeit ist.

Aus der grundlegenden Anforderung leiten sich weitere Anforderungen ab: Damit sichergestellt ist, dass alle Partikel dem gleichen, parabolischen Strömungsprofil ausgesetzt sind, wird die hydrodynamische Fokussierung eingesetzt (siehe Kapitel 2.2.1), die den Probenstrom auf einen Bereich in der Mitte bezogen auf die Kanalbreite beschränkt. Daraus resultiert die Anforderung  $w/d \rightarrow \infty$  für das Aspektverhältnis von Kanalbreite  $w$  und Kanalhöhe  $d$ . So wird sichergestellt, dass die Partikel einem eindimensionalen Flussprofil wie in Abbildung 2.5 dargestellt, ausgesetzt sind. Konstante Flussrate vorausgesetzt, ist die Konstanz des Strömungsprofils im Bereich des Probenstroms ausschließlich durch die Integrität der Kanalhöhe  $d$  in  $x$ - und  $y$ -Richtung (siehe Abbildung 2.1) gegeben. Insbesondere Sprünge müssen strikt vermieden werden, um turbulente Strömungen zu verhindern. Damit die Partikel die Gleichgewichtslage erreichen können, müssen zudem die benötigte Laufstrecke  $\Delta l$  der Partikel und die Druckstabilität des Kanals in Einklang gebracht werden. Die Druckstabilität setzt eine Obergrenze für die maximale Flussrate/Kanalreynoldszahl in einem Kanal. Je nach Partikeldurchmesser folgt somit nach Gleichung (2.61), ob die erforderliche Laufstrecke  $\Delta l$  für das Erreichen der Gleichgewichtslage zur Verfügung steht. In Anlehnung an die Veröffentlichung von Di Carlo *et al.*<sup>5</sup> (2009) wird eine Kanalhöhe von  $20\ \mu\text{m}$  mit einer Laufstrecke  $\Delta l$  von  $50\ \text{mm}$  angestrebt. Wegen  $w/d \rightarrow \infty$  wird  $w = 500\ \mu\text{m}$  angestrebt. Die Druckstabilität sollte bis zu einer Kanalreynoldszahl von  $Re_K = 20$  ermöglicht werden.

Um die RMF-Technik einsetzen zu können, wird eine mit einem Laserstrahl ausgeleuchtete Detektionszone benötigt. Die maximale Sensitivität für die experimentelle Arbeit ist dann gewährleistet, wenn sichergestellt ist, dass mindestens im Bereich der Detektionszone, besser noch alle Oberflächen des Chips optische Qualität haben, so dass das Streulicht auf ein Minimum reduziert ist. Des Weiteren muss die Transmission des Chipmaterials für die Anregungswellenlänge und die Wellenlänge der Fluoreszenzemission maximal sein und die Eigenfluoreszenz des Materials sollte gering sein.

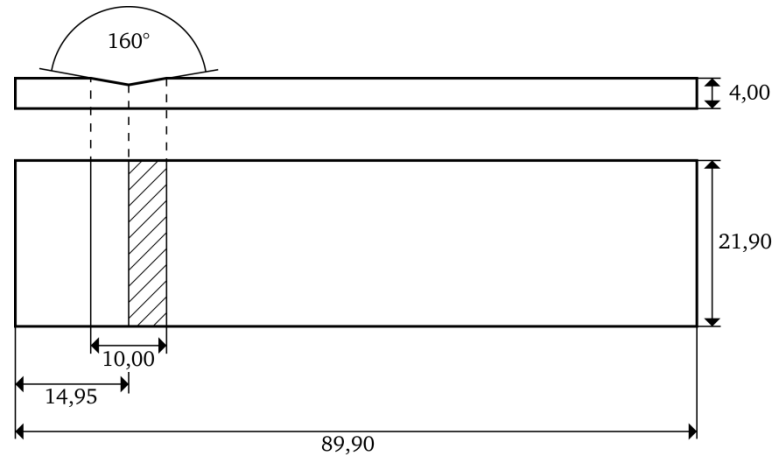
Chips, die diesen Anforderungen genügen, sind nicht kommerziell verfügbar. Dies verlangt die Entwicklung eines Herstellungsprozesses, der sich in vier Abschnitte einteilen lässt:

1. Fräsen eines Rohlings,
2. Heißprägen der Strukturen und anschließende Formkorrektur in der Fräse,
3. Reinigung der Kanalstrukturen und UV-aktiviertes Bonding,
4. Ultraschallschweißen der fluidischen Anschlüsse.

Die folgenden vier Kapitel beschreiben den Herstellungsprozess detailliert am Beispiel des am meisten verwendeten Chips mit der Nummer SOI-70. In Kapitel 3.1.5 wird anschließend die Funktionsweise genau erläutert und eingehend untersucht, wie gut dieser Chip die Anforderungen erfüllt.

### 3.1.1. Fräsen eines Rohlings

Die Rohlinge werden aus 4 mm starkem Polymethylmetachrylat (PMMA)-Platten (PLEXI-GLAS®, (XT)) gefräst. Dieses Material ist gut geeignet für optische Anwendungen aufgrund seiner hohen Transparenz gegenüber sichtbarem Licht und seiner, im Vergleich zu anderen Polymeren, hohen Kratzfestigkeit. Die Maße eines Rohlings sind in Abbildung 3.2 gezeigt.



**Abbildung 3.2** Skizze des gefrästen Chiprohlings im Maßstab 1:1. (Maße in mm).

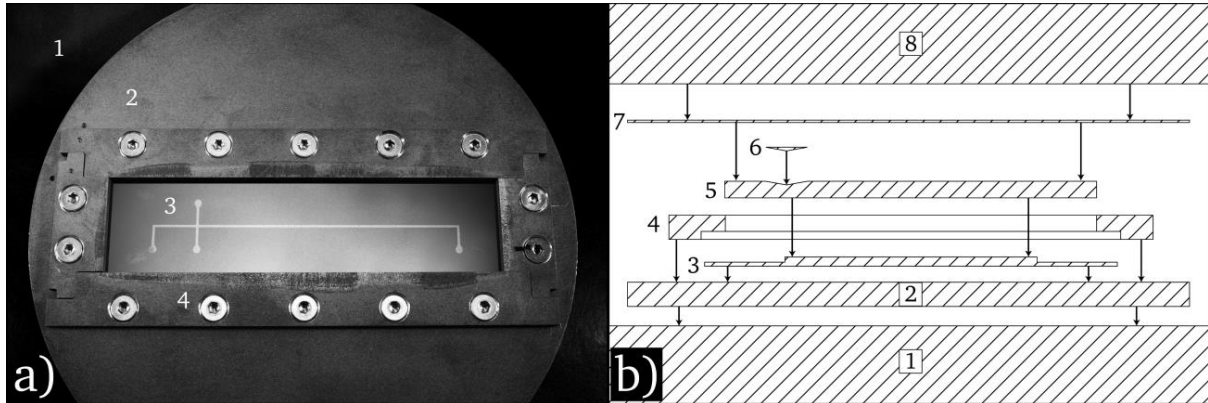
Die Stärke der Rohlinge ist gleich der Stärke der PMMA-Platten, so dass der Rohling nur auf seine Außenmaße von  $(89,90 \cdot 21,90) \text{ mm}^2$  herunter gefräst wird. D.h. die Ober- und Unterseite bleiben unbearbeitet und sind somit glatt und transparent. Die einzige Bearbeitung der Oberseite findet in Form eines Keils statt, dessen Öffnungswinkel  $160^\circ$  beträgt und der auf beiden Seiten gegen die Horizontale einen Winkel von  $10^\circ$  hat. Die bearbeitete Oberfläche ist durch das Fräsen rau und intransparent. Der rechte Teil des Keils (schraffierte Fläche) wird beim fertigen Chip als Eintrittsfläche für den Laserstrahl genutzt. Im Folgenden wird der Keil deswegen als „Optikkeil“ bezeichnet.

### 3.1.2. Heißprägen der Strukturen und Formkorrektur in der Fräse

Für das Heißprägen der Strukturen in den Rohling wird ein Prägestempel benötigt. Dieser Prägestempel wird aus Silizium auf einem Isolator Wafer (SOI-Wafer) hergestellt. Ein solcher Wafer besteht aus drei Schichten. Die untere Trägerschicht (Stärke:  $525 \mu\text{m}$ ) besteht aus einem Silizium Einkristall. Eine Stoppschicht aus Siliziumdioxid (der Isolator, Stärke:  $1 \mu\text{m}$ ) trennt die Trägerschicht von einer  $20 \mu\text{m}$  starken (Schichtdickenschwankung:  $< 0,4 \%$ ), reinen Siliziumoberfläche. Diese Oberfläche wird weggeätzt, wobei der Ätzprozess an der Siliziumdioxidschicht endet. Deswegen wird diese Schicht auch Stoppschicht genannt. Die Stärke der Siliziumoberfläche gibt im späteren Prägeprozess die Kanaltiefe vor. Einen SOI-Wafer als Prägestempel zu verwenden hat zwei Gründe: Die geringen Trägerschichtschwankungen versprechen gleichbleibend hohe Kanäle im Chip und alle Flächen des Prägestempels haben nach dem Ätzprozess optische Qualität.

Die Kanalstruktur ist auf einer Folienmaske vorgegeben und wird von dieser UV-lithografisch in einen Fotolack übertragen, der die Siliziumoberfläche gleichmäßig bedeckt. Die belichteten Bereiche des Fotolacks werden mit einer Entwicklerflüssigkeit entfernt. Das unbedeckte Silizium wird anschließend in einer „Advanced Silicon Etching (ASE)“-Anlage (trockenes, reaktives Ionenätzen) bis zur Stoppschicht heruntergeätzt. Zum Schluss wird der unbelichtete Fotolack zusammen mit Polymerresten aus dem ASE-Prozess verascht, der SOI-Wafer auf die Außenmaße  $21 \cdot 94 \mu\text{m}^2$  zugeschnitten und gereinigt. Der fertige SOI-Prägestempel (3) wird, wie in Abbildung 3.3, a) und b) zu sehen, zwischen einem Formrahmen (4) und der Halteplatte (2)

eingefasst. Dieses „Sandwich“ wird auf die untere Heizplatte der Heißpräge gelegt. Die Kanalstruktur, die auf dem SOI-Prägestempel (3) zu sehen ist, hat durchgehend eine Höhe von  $20\text{ }\mu\text{m}$ . Die kreisrunden Strukturen an jedem Ende der Kanalstruktur sind Vorbereitungen für die fluidischen Anschlüsse, durch die später die Flüssigkeiten in den Kanal eintreten. Bis auf diese Strukturen hat die Kanalstruktur eine Breite von  $500\text{ }\mu\text{m}$ .



**Abbildung 3.3** a) Der SOI-Prägestempel (3) mit Kanalstruktur. Er liegt auf der Halteplatte (2) und ist eingefasst in den auf die Halteplatte geschraubten Formrahmen(4). Die Halteplatte selbst liegt auf der unteren Heizplatte der Heißpräge (1). b) Die Skizze des „Prägesandwichs“ zeigt einen horizontalen Schnitt entlang des Kanals. In den Formrahmen wird der Rohling (5) aus Abbildung 3.2 gelegt. Der Optikkeil (6) wird mit der Kerbe nach unten in den vorgefrästen Keil eingelegt. Die Oberseite wird vollständig von einem unstrukturierten SI-Wafer (7) bedeckt. Die obere Heizplatte der Heißpräge (8) drückt während des Heißprägens von oben auf die Oberseite des SI-Wafers.

Der Skizze in Abbildung 3.3, b) folgend wird der Chiprohling mit dem Optikkeil nach oben zeigend in die Mulde des Formrahmens gelegt. In den Optikkeil wird ein aus Messing gefertigter und auf optische Qualität polierter Messingkeil eingelegt, um den Hohlraum auszufüllen und die rauen Oberflächen während des Prägeprozesses zu glätten und optische Qualität zu erreichen. Abgedeckt wird der Chiprohling und Messingkeil mit einem unstrukturierten Wafer. Da dieser spiegelglatt ist und so nicht die raue Oberfläche der oberen Heizplatte während des Prägeprozesses in den Chiprohling übertragen wird, ist optische Qualität sichergestellt.

Die obere- und untere Heizplatte der Heißpräge (Modell: Hex 01, Jenoptik AG) sind nicht absolut parallel zueinander. Entlang der stärksten Divergenz gemessen garantiert der Hersteller einen Wert  $\leq 30\text{ }\mu\text{m}$  gemessen über den Durchmesser der Heizplatten ( $180\text{ mm}$ ). Dies ergibt eine Steigung von  $0,016\text{ }\%$ , die Keilfehler genannt wird. Der Keilfehler der Halteplatte beträgt  $0,05\text{ }\%$ . Die Halteplatte mit Formrahmen ist so gedreht, dass der Keilfehler von Halteplatte und Präge sich möglichst ausgleicht. Der gemessene Keilfehler der geprägten Rohlinge beträgt im Durchschnitt  $0,02\text{ }\%$ . Der Keilfehler des SOI-Wafers ist mit  $0,0016\text{ }\%$  vernachlässigbar.

Im Folgenden wird der Prägeprozess für den Chip mit der Nummer SOI-70 beschrieben, der auch im Ergebnisteil verwendet wurde:

Wenn die Heißpräge geschlossen ist und die obere Heizplatte auf den Sandwich drückt (Kraft:  $500\text{ N}$ ), werden die Heizplatten auf eine Temperatur von  $180^\circ\text{C}$  aufgeheizt. Sobald beide Platten diese Temperatur erreicht haben, wird eine Kraft von  $5000\text{ N}$  aufgebaut und für  $120\text{ s}$  aufrecht erhalten. Anschließend wird so schnell wie möglich der Rohling auf eine Entformtemperatur von  $60^\circ\text{C}$  heruntergekühlt, die Präge geöffnet, und der geprägte Rohling entformt. Das über den Formrahmen herausstehende Material des Rohlings ist nun über den Formrah-

men gequollen. Der geprägte Rohling wird auf die Außenmaße in der rechten Zeichnung von Abbildung 3.4 heruntergefräst. Zusätzlich werden in diesem Schritt auch die fluidischen Anschlüsse vorbereitet, indem der Rohling an den kreisrunden Anfängen der Kanalstrukturen durchbohrt wird. Auf die Anschlüsse selbst wird dann ausführlich im Abschnitt 3.1.4 eingegangen.

### 3.1.3. Reinigung der Kanalstrukturen und UV-aktiviertes Bonding

Der durch das Fräsen stark verunreinigte Rohling muss gründlich gesäubert werden, um später einen durchlässigen Kanal sowie ein Bonding ohne Schwachstellen zu erhalten. Die Fett- und Klebstoffreste des Fräsprozesses werden unter Reinraumatmosphäre mit einem Reinraumbuch und Isopropanol entfernt. Sofort nach dem Abwischen muss der geprägte Rohling unter fließendem, deionisiertem (DI) Wasser gründlich gespült werden, damit das Isopropanol nicht das PMMA angreift. Anschließend wird der Rohling je 5 min in einem Ultraschallbad (DI-Wasser), mit der Keilseite nach oben und nach unten lagernd, gereinigt. Anschließend wird der Rohling mit DI-Wasser abgespült und mit Stickstoff trocken geblasen. Wichtig sind insbesondere der Transport und die Lagerung in einer staubfreien Plastiktüte.

Der offene Kanal auf dem Chiprohling muss mit einer Deckfolie verschlossen werden. Der entsprechende Vorgang wird üblicherweise als „Bonding“ bezeichnet. Herkömmliche Bondingverfahren verbinden die Oberflächen vorwiegend durch den Einsatz von Lösemittel (Acetylaceton), durch die Verwendung von selbstklebenden Deckelfolien oder mittels Laserschweißen. Die erforderlichen Kanalhöhen im Mikrometerbereich lassen diese Methoden aber nicht zu. Der Lösemittelauftrag kann nicht hinreichend gut kontrolliert werden, so dass die geprägten Kanalstrukturen ganz oder teilweise entfernt würden. Verformbare Klebeschichten dringen teilweise in den Kanal ein und die Oberflächen der Klebeflächen haben keine hinreichende optische Qualität im Kanal. Beim Laserschweißen müssen absorbierende Farbstoffe eingebracht werden, die in der Struktur verbleiben und mit den optischen Anforderungen an die Transparenz nicht vereinbar sind. Eine neue Alternative stellt das UV-aktivierte Bonding dar, dass von R. Truckenmüller *et al.*<sup>38</sup> erstmals beschrieben wird. Die zu verbindenden Oberflächen werden mit UV-Licht ( $< 330\text{nm}$ ) bestrahlt, so dass Photodegradation auftritt. D.h. hauptsächlich chemische Verbindungen der Methylestergruppen an den Polymerketten brechen durch Absorption von Photonen auf, seltener die Polymerketten selbst, wie z.B. in J.O. Choi *et al.*<sup>39</sup> nachzulesen. Dieses Aufbrechen findet nur im Bereich der Eindringtiefe des UV-Lichts statt, die z.B. bei  $240\text{ nm}$  Wellenlänge im Bereich von wenigen Mikrometern liegt, und senkt dort die Glasübergangstemperatur  $T_G$  des PMMA, so dass dieser Bereich bei niedrigeren Temperaturen als  $T_G$  verformbar ist, im Gegensatz zu dem darunterliegenden, unbestrahlten PMMA Volumen. Man spricht nun von einer UV-aktivierten Schicht. Die beiden zu verbindenden Oberflächen werden aufeinander gedrückt und das Sandwich soweit aufgeheizt, dass die Glasübergangstemperatur  $T_G$  der UV-aktivierten Schicht überschritten wird. Die beiden aktivierten Schichten verschmelzen, während das nicht aktivierte PMMA formstabil bleibt, da die Temperatur unter dem  $T_G$  in diesem Bereich gehalten wird. Kanalstrukturen im Mikrometerbereich und sogar geringer sind somit möglich.

Für die UV-Aktivierung der Oberfläche des geprägten SOI-70 Rohlings, in welche die Kanalstruktur eingeprägt ist, sowie für die Aktivierung der Oberfläche der Deckfolie (PMMA, Dicke:  $250\text{ }\mu\text{m}$ ) wird ein UV-Ofen (Typ: Loctite UVA\_LOC 1000) verwendet. Auf der dritten Schiene von oben (ungefähr  $25\text{ cm}$  unterhalb der UV-Lampe) wird zuerst nur der Rohling für  $1\text{ min}$  bestrahlt, dann um  $180^\circ$  gedreht und nochmals für  $1\text{ min}$  bestrahlt. Anschließend werden sowohl der Rohling, als auch die Deckfolie für  $2\text{ min}$  bestrahlt, dann werden beide um  $180^\circ$  gedreht und nochmals für  $2\text{ min}$  bestrahlt. Anschließend ist die Aktivierung beendet. Die

---

Drehungen reduzieren die Auswirkungen der ungleichmäßigen Ausleuchtung des Ofens zumindest teilweise.

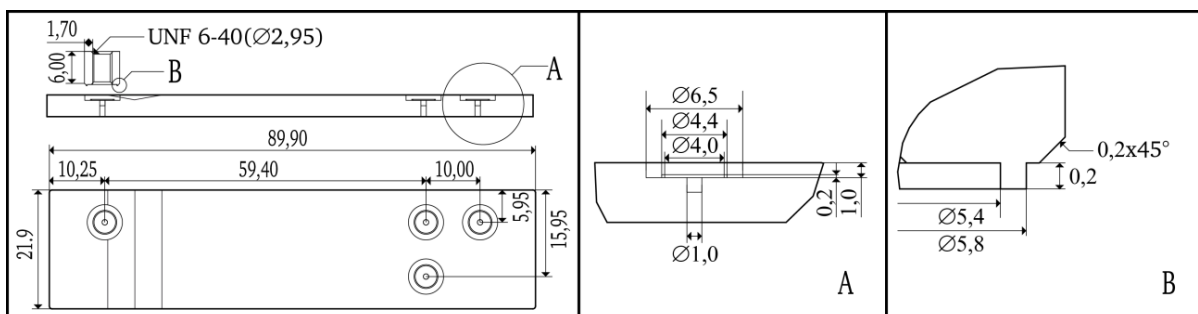
Das eigentliche Bondingverfahren findet wieder in der Heißpräge statt unter Verwendung eines gegenüber Abbildung 3.3, b) etwas veränderten Sandwiches. Auf die Halteplatte (2) wird ein unstrukturierter Wafer gelegt, um eine optisch glatte Unterlage zu haben. Auf diesen Wafer wird statt des SOI-Prägestempels (3) die Deckelfolie mit der aktivierten Seite nach oben gelegt. Der aktivierte SOI-70 Rohling wird auf die Folie mit der aktivierten Schicht nach unten gelegt. Seine Ausrichtung muss übereinstimmen mit der Ausrichtung während des Prägeprozesses, da so der Einfluss des beim Prägen in den Rohling übertragenen Keilfehlers kompensiert wird. Auf den Formrahmen (4) wird verzichtet, da nicht der gesamte Rohling, sondern nur die oberflächennahe Schicht aufgeschmolzen wird und keine erkennbare Verdrängung von Material in Richtung Rohlingaußenkante stattfindet. Ansonsten ist das Sandwich analog zu Abbildung 3.3, b) aufgebaut. Nach dem Schließen der Heißpräge wird auf eine Temperatur von  $70^{\circ}\text{C}$  geheizt, eine Kraft von  $4500\text{ N}$  aufgebaut und über einen Zeitraum von  $40\text{ min}$  aufrecht erhalten. Danach wird die Präge geöffnet und der fertig gebondete Chip entnommen. Überstehende Folienreste werden mit einem Cutter vorsichtig entfernt.



### 3.1.4. Ultraschallschweißen der fluidischen Anschlüsse

Im Fräsprozess nach dem Prägen werden Strukturen für die fluidischen Anschlüsse der Kanalstruktur vorbereitet, mit denen eine dichte und druckfeste Verbindung von Schlauch und Chip möglich wird und über die die Flüssigkeiten in die jeweiligen Kanäle geleitet werden. Die Zuleitung zu den Kanälen erfolgt mit Durchbohrungen des geprägten Rohlings an den Positionen, die in Abbildung 3.4, in der linken, unteren Zeichnung skizziert sind. Die Kanalstrukturen sind an diesen Positionen zu einem runden Hof aufgeweitet, wie in Abbildung 3.3, a) dargestellt. Die Aufweitung durch den Hof wird genutzt, damit die Bohrung im Rahmen der Fertigungstoleranzen zuverlässig den Kanal auf der Kanalseite des Chips trifft. Die Vergrößerung A zeigt eine solche Durchbohrung, die einen Durchmesser von  $1,0\text{ mm}$  hat. Auf der Keil-/Anschlussseite sitzt die Bohrung mittig in einer kreisrunden Vertiefung mit einem Innendurchmesser von  $6,5\text{ mm}$ , die in den Rohling gefräst ist. Sie ist  $1,0\text{ mm}$  tief und enthält eine  $0,2\text{ mm}$  hohe Erhebung mit einem Innendurchmesser von  $4,0\text{ mm}$  und einem Außendurchmesser von  $4,4\text{ mm}$ . Diese Erhebungen werden für das spätere Ultraschallschweißen gebraucht und werden Energierichtungsgeber genannt.

In der rechten, oberen Zeichnung von Abbildung 3.4 ist ein fluidischer Anschluss skizziert. Er ist realisiert in Form einer runden Hülse mit einem  $UNF\ 6 - 40$  ( $\varnothing\ 2,95$ ) Innengewinde mit einer Höhe von  $6\ mm$  und einer Wandstärke von ungefähr  $1,7\ mm$ . Die Vergrößerung B zeigt den anschlussseitigen Energierichtungsgeber. Zusätzlich ist eine umlaufende Fase mit einem Winkel von  $45^\circ$  zu sehen. Diese dient der Positionierung des Anschlusses in der Vertiefung, da die Vertiefung mit der Anschluss-hülse eine Presspassung bildet, um zusätzliche Stabilität beim Verschweißen zu erreichen.



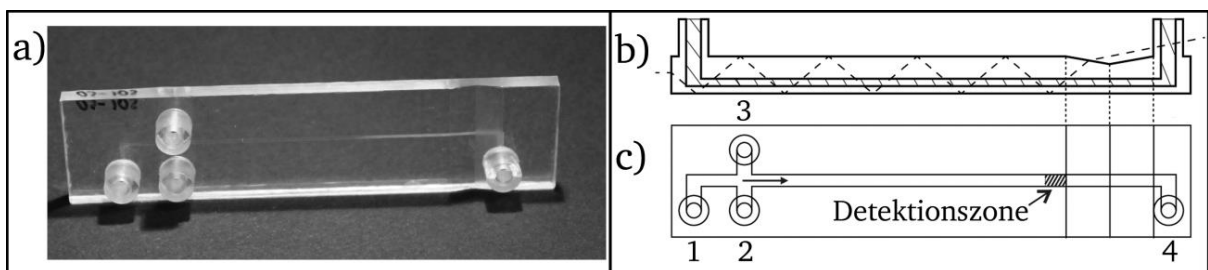
**Abbildung 3.4** Die Zeichnung zeigt die Außenmaße und Strukturen, die nach dem Heißprägen in den Chip gefräst werden, bzw. auf die der Chip gekürzt wird. A und B sind Vergrößerungen des äußeren, linken Bildes, um Details der Energierichtungsgeber zu verdeutlichen (siehe Text).

Der gebondete Rohling wird mit der Folie nach unten auf eine polierte Oberfläche eines massiven Stahlblocks gelegt. Eingefasst ist er von sechs Stiften, die ein seitliches Verrutschen des Chips verhindern. Die Anschlusshülsen werden einzeln nacheinander angeschweißt. Dazu wird eine Hülse in die Vertiefung gedrückt. Das Schweißwerkzeug (TE-20-41459) der Ultraschallschweißanlage (USP 750, Telsonic AG) ist ein senkrechter Titanzylinder und wird mit einem Schweißdruck von 6 bar auf die Hülse gedrückt. Die Schweißpulsenergie beträgt 3,1 Ws. Die Hülse verschmilzt mit dem gebondeten Rohling sowohl an den Energierichtungsgebern als auch an der Wand der Vertiefung. Letzteres erhöht die Stabilität signifikant im Gegensatz zum Aufschweißen der Hülsen ohne Vertiefung. Ein gutes Schweißergebnis ist dann erreicht, wenn die Schweißnähte transparent und nicht milchig sind. Gute Schweißverbindungen können die Zugkräfte von mehreren 10 bar Druck aufnehmen. In die Hülsen werden zum Schluss Dichtungsringe (O-Ring: 70 NBR 600, (1 · 1) mm<sup>2</sup>, Arcus GmbH) eingelegt.

Das Ultraschallschweißverfahren ist ein sogenanntes Reibschweißverfahren. Durch das Reiben zweier Bauteile aufeinander wird lokal Hitze erzeugt, die Bauteile verschmelzen lokal miteinander. Die Energierichtungsgeber definieren den Bereich, an dem das Verschmelzen stattfindet.

### 3.1.5. Untersuchung des mikrofluidischen Chips SOI-70

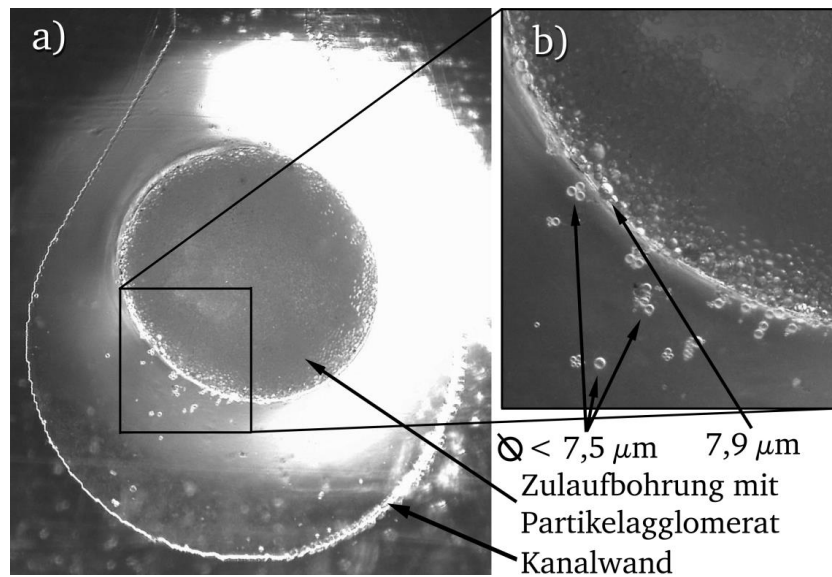
In Abbildung 3.5, a) ist der benutzte SOI-70 gezeigt. Gut sichtbar sind die vier aufgeschweißten Gewindehülsen und die Chipkennung auf der linken, oberen Ecke. Bis auf die Außenränder haben alle Oberflächen des Chips optische Qualität. Die Kanäle haben sich während des Betriebs leicht eingetrübt. Ein Querschnitt entlang des horizontalen Kanals ist in Abbildung 3.5, b) skizziert. Der von rechts einfallende Laserstrahl (gestrichelte Linie) trifft die linke Flanke des Optikkeils mit dem Brewster-Winkel von  $56,1^\circ$  (Brechungsindex PMMA:  $n = 1,49$ ). Die Flanke ist gegen die Horizontale um  $10^\circ$  geneigt. Der Laserstrahl tritt annähernd reflexfrei in den Chip ein, was die zur Verfügung stehende Leistung in der Detektionszone maximiert und störendes Streulicht reduziert. An der Stelle, an der der Strahl den Messkanal durchquert, befindet sich die Detektionszone der Partikel. Ihre Mitte ist ungefähr  $47,5\text{ mm}$  von der Mitte der Kanalkreuzung entfernt. Die Lauflänge wird damit in dieser Arbeit auf  $\Delta l = 47,5\text{ mm}$  definiert. Der Strahl trifft nach dem Durchqueren des Kanals unter einem Winkel von  $43,9^\circ$  auf die Unterseite des Chips. Da bei einem PMMA/Luft Übergang Totalreflexion ab  $42,155^\circ$  auftritt, wird der Strahl an der optisch glatten Unterseite des Chips totalreflektiert. Im weiteren Verlauf wird er, wie in Abbildung 3.5, b) skizziert, zwischen Ober- und Unterseite des Chips hin und her reflektiert, bis er schließlich auf die linke Seitenfläche trifft und aus dem Chip austritt. Jede Kreuzung des Strahls mit dem Kanal stellt eine mögliche Detektionszone dar. Aufgrund der Totalreflexion wirkt die Unterseite des Chips wie ein Filter für das eingestrahlte Anregungslicht. Während fluoreszierende Partikel, die die Detektionszone durchlaufen, ihr Fluoreszenzlicht isotrop emittieren und das Licht somit durch die Unterseite austreten kann, wird die gerichtete Laserstrahlung totalreflektiert. An Partikeln, Inhomogenitäten oder Kanalanten gestreutes Laserlicht tritt ebenfalls durch die Unterseite des Chips aus, so dass für eine saubere Trennung zwischen Fluoreszenzlicht und Anregungslicht noch ein zusätzlicher, optischer Filter eingesetzt wird. Die in Abbildung 3.5, a) zu sehende und in c) skizzierte, asymmetrische Anordnung des Probenzulaufs (1) und des Ablaufs (4) wurde gewählt, um diese aus der Laserstralebene zu setzen. Andernfalls könnte an den Anschlüssen zusätzliches Streulicht erzeugt werden. Die Hüllflüssigkeit wird mit Anschluss (2) und (3) zugeführt. Am Kanalkreuzung kommt es zur hydrodynamischen Fokussierung. Die Strömungsrichtung im Messkanal ist durch den Pfeil gekennzeichnet.



**Abbildung 3.5** a) Foto des fertigen (und auch gebrauchten) Chips SOI-70. b) Skizze eines Querschnitts durch Kanal und Anschluss eines fertigen Chips. c) Aufsicht auf den Chip; der Pfeil im Kanal zeigt in Strömungsrichtung. 1,2,3 und 4 sind die Anschlüsse des Chips.

In Abbildung 3.6, a) ist der Übergang der Zulaufbohrung des Probenanschlusses 1 in den Kanal gezeigt. Bei einer Testmessung einer Suspension mit Partikeln bis zu einem Durchmesser von  $10\text{ }\mu\text{m}$  kam es zu einer Verstopfung. Der Grund für diese Verstopfung ist ein umlaufender

Grat am Rand der Zulaufbohrung, der beim Bohren des Zulaufs entsteht und an dieser Stelle die Kanalhöhe reduziert, so dass im Schnitt Partikel mit einem Durchmesser größer als  $7,5\ \mu\text{m}$  diese Stelle nicht passieren können, was anhand der Vergrößerung in Abbildung 3.6, b) mit Hilfe des Mikroskops untersucht wurde. Außerhalb der Verstopfung wurden nur kleinere Partikel gefunden. Durch das Hängenbleiben der größeren Partikel, wie z.B. das  $7,9\ \mu\text{m}$  große Partikel kann der gesamte Übergang verschlossen werden, so dass später auch die kleineren Partikel nicht mehr passieren können. Dieses Problem konnte für die Messungen in Kapitel 4 nicht behoben werden, so dass die Messungen auf kleinere Partikel ( $<7,5\ \mu\text{m}$ ) eingeschränkt wurden. Durch die richtige Drehzahl beim Bohren kann dieser Grat reduziert werden, oder es muss ein Prozessschritt zum Entgraten hinzugefügt werden.



**Abbildung 3.6** a) zeigt die Stelle des Probenzuführungsanschlusses 1, an der die Zulaufbohrung den Kanal trifft, nach dem Messen einer Suspension mit Partikeldurchmessern bis  $10\ \mu\text{m}$ . Der Rand der Zulaufbohrung hat einen Grat, der die Kanalhöhe an dieser Stelle reduziert und es somit Partikeln  $< 7,5\ \mu\text{m}$  nicht möglich ist, in den Kanal einzuströmen, was anhand der Vergrößerung in b) untersucht wurde. Letztlich führt dies zur Verstopfung durch das Partikelagglomerat, was in a) deutlich zu sehen ist.

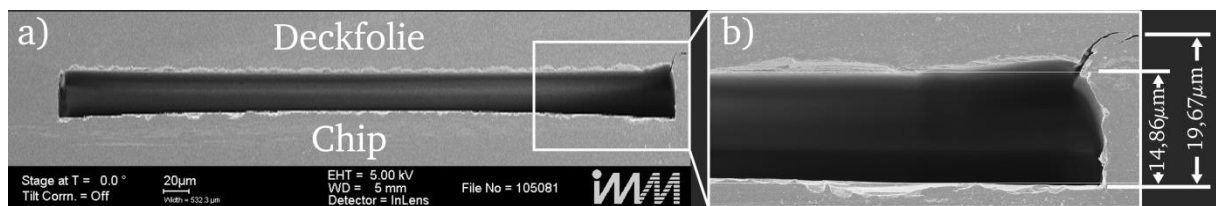
Abbildung 3.7, a) zeigt eine REM-Aufnahme des Kanalquerschnitts an der Stelle der Detektionszone. Das Bild wurde vertikal gestreckt, um Details im Querschnitt sichtbar zu machen. Die Deckfolie bildet die Kanaldecke, während der Chip selbst der Kanalboden ist. Die Breite  $w$  des Kanals ist  $477,6\ \mu\text{m}$ . In der Vergrößerung b) der rechten Kanalwand ist in der rechten, oberen Ecke des Kanals eine Naht entlang des Bondings zu erkennen. Deutlich zu sehen ist der anfangs steile Verlauf, der dann in die Waagerechte übergeht. Der Abstand des Kanalbodens zur -decke an der Stelle der Kanalwand beträgt  $14,86\ \mu\text{m}$ . Der senkrechte Abstand zwischen der waagerechten Naht des Bondings und des Kanalbodens beträgt  $19,67\ \mu\text{m}$ .

Aufgrund der Stärke der Siliziumoberfläche des SOI-Wafers werden  $20\ \mu\text{m}$  tiefe Kanäle erwartet. Nach dem Prägeprozess sind die Kanäle gleichmäßig  $20\ \mu\text{m}$  tief, die Tiefenschwankung liegt unter  $\pm 2\%$ . Die Schichtdickenschwankung der Siliziumoberfläche liegt unter  $0,4\%$ . Diese Werte zeigen, dass bereits im Prägeprozess Präzision der Kanalhöhe verloren geht. Aber mit diesen Werten kann die Entfernung des Kanalbodens zur waagerechten Naht von  $19,67\ \mu\text{m}$  erklärt werden, da diese Abweichung von  $20\ \mu\text{m}$  im Bereich der  $\pm 2\%$  liegt. Damit ist aber nicht die Kanalhöhe von  $14,86\ \mu\text{m}$  erklärbar. Die Ursache der starken Abnahme der Kanalhöhe von über  $25\%$  liegt im Bondingprozess. Aus der Untersuchung mehrerer REM-Aufnahmen

von Chips, bei deren Herstellung die Parameter des Bondingprozesses variiert wurden, können zwei Dinge qualitativ festgestellt werden:

- Die Abweichung der Kanalhöhe ist geringer, wenn die UV-Belichtungszeit deutlich verkürzt wird.
- Eine Reduktion der Anpresskraft bei gleicher Belichtungszeit hat fast keinen Einfluss auf diese Abweichung.

Das zeigt, dass durch die lange UV-Bestrahlung auch tiefer liegende Schichten des PMMA aktiviert wurden, was zur Abnahme der Kanalhöhe von 25 % führt. Der Verbleib des überschüssigen Materials ist nicht geklärt. Da sich die Kanalbreite nur minimal verringert, muss der überwiegende Anteil des Materials nach außen verdrängt worden sein.



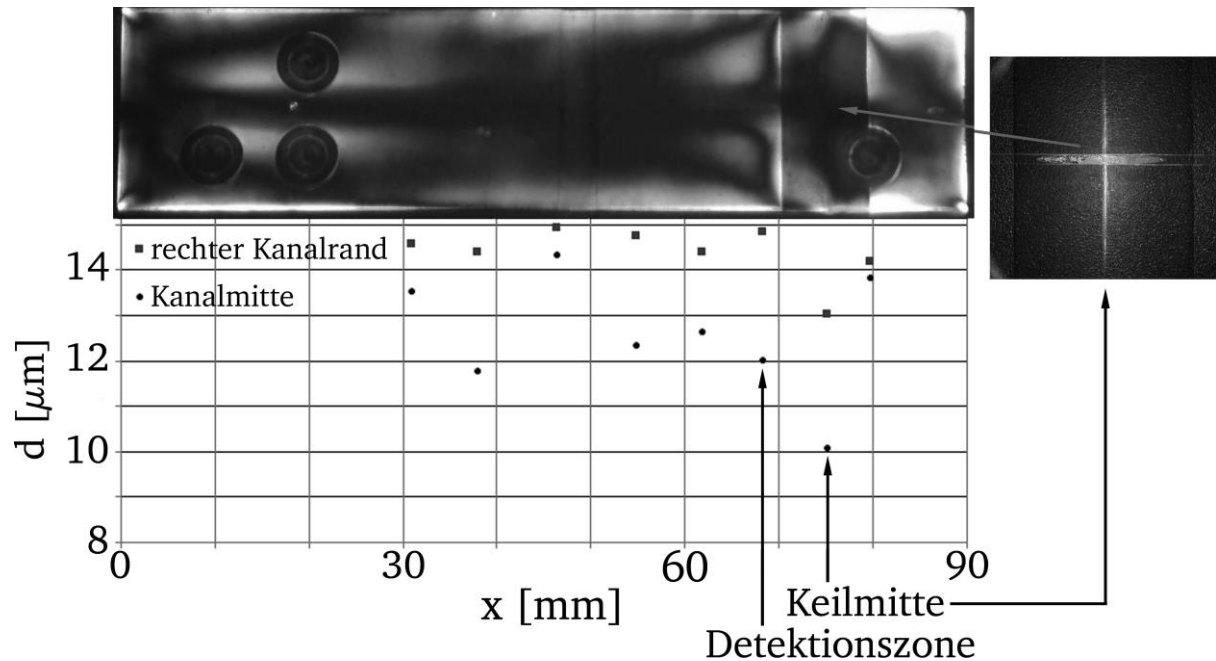
**Abbildung 3.7** a) REM Aufnahme des Kanalquerschnitts eines benutzten Chips. Die Aufnahme wurde vertikal stark gestreckt, um Details besser sichtbar zu machen, insbesondere die Wölbung des Kanalbodens. b) Größere REM Aufnahme des in a) mit dem weißen Rechteck markierten Bereichs. Man sieht oben rechts deutlich die Naht des Bondings zwischen Deckfolie und dem Chip.

In Abbildung 3.7, a) ist deutlich eine Wölbung des Kanalbodens zu sehen. Die Deckfolie ist nicht gewölbt. Am rechten Kanalrand ist die Kanalhöhe  $d = 14,86 \mu\text{m}$ , bis zur Mitte hin nimmt sie ab auf  $d = 12,01 \mu\text{m}$ , um dann wieder auf eine Höhe von  $d = 14,81 \mu\text{m}$  anzusteigen. Der Grund dafür sind Spannungen, die in das PMMA durch den Prägeprozess eingebracht worden sind und eine Krümmung des Chips zur Folge haben, die wiederum zur Aufwölbung des Kanalbodens führt.

Spannungen werden beim Prägeprozess durch das schnelle Abkühlen unter Druck „eingefroren“. Sie sind deswegen problematisch, da sich das Plastik durch sie bei einem erneuten Erwärmen verformt. D.h. während der Aufwärmphase des Bondingprozesses wölbt sich der geprägte Rohling, was die Ursache für die Wölbung im Kanalboden ist. Da während des Bondingprozesses die Deckelfolie fest mit dem geprägten Rohling verbunden wird, kann sich der geprägte Rohling beim Abkühlen auf Raumtemperatur nicht wieder entspannen, die Kanalwölbung bleibt erhalten.

Diese Spannungen lassen sich mittels Spannungsoptik sichtbar machen. Die Bereiche des Chips, in denen Spannungen eingefroren sind, werden doppelbrechend und können mit Hilfe eines Polarimeters sichtbar gemacht werden (für weitere Details siehe L. Flöppl und E. Mönch<sup>40</sup>). Das obere Bild in Abbildung 3.8 zeigt das Ergebnis einer Spannungsuntersuchung. Die hellen Bereiche des geprägten SOI-70 Rohlings stehen unter Spannung, während die dunklen Bereiche spannungsfrei sind. Man sieht deutlich umlaufend an den Rändern Spannungen und besonders im Bereich des Optikkeils werden starke Spannungen im Chip sichtbar. Dies zeigt sich auch im Verlauf der am rechten Kanalrand (eckige Punkte) und in der Mitte (runde Punkte) gemessenen Kanalhöhen  $d$  in  $x$ -Richtung, die in Abbildung 3.8 im Graph aufgetragen sind. Die Höhe  $d$  am rechten Kanalrand schwankt nicht so stark wie in der Mitte. Bei  $x \approx 45 \text{ mm}$  nehmen beide ihren größten Wert an und die Differenz zwischen beiden Werten ist gering, im Vergleich zu den anderen Messpunkten. An dieser Stelle ist die

Wölbung schwach und man sieht am oberen Bild, dass an dieser Stelle auch die Spannungen gering sind. Im Gegensatz dazu nehmen am Keil beide Höhen ihren geringsten Wert an und auch die Differenz ist maximal. D.h. die Wölbung ist sehr ausgeprägt und dies lässt sich mit den starken Spannungen erklären, die im oberen Bild zu sehen sind. Starke Spannungen im Zusammenspiel mit langen Belichtungszeiten können sogar zum Verschluss des Kanals an der Stelle der Optikkeilmite nach dem Bondingprozess führen, was im rechten Bild zu sehen ist. Der Verschluss findet immer an dieser Stelle statt, da durch die starke Wölbung an dieser Stelle ein Kontakt zwischen Kanaldecke und -boden am wahrscheinlichsten ist.

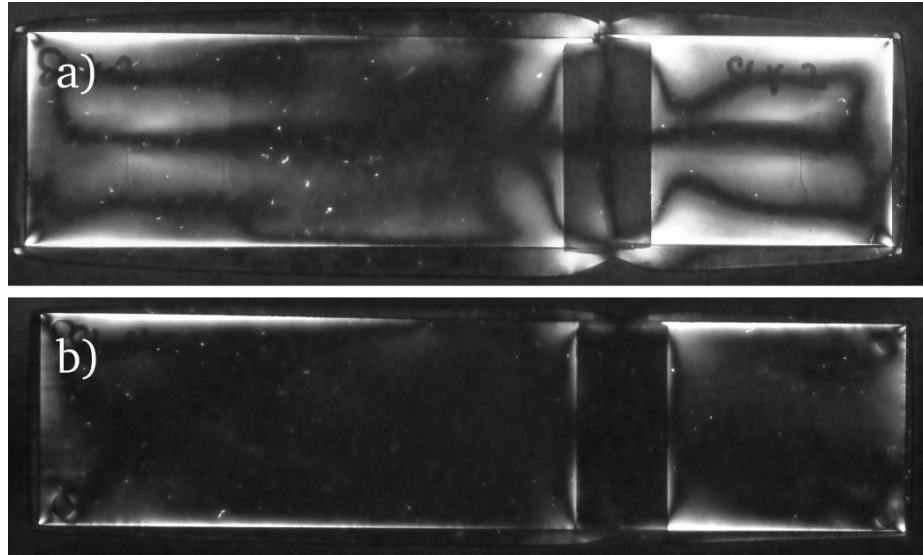


**Abbildung 3.8** Im oberen Bild sind die Spannungsverläufe (helle Bereiche) eines bereits geprägten und gefrästen Chips zu sehen. Darunter sind mittels REM Aufnahmen gemessene, mittige Kanalhöhen gegen die Position  $x$  (siehe Abbildung 2.1) aufgetragen. Die niedrige Höhe in der Keilmite kann beim Bondingprozess zum Verschluss des Kanals führen, wie im rechten, oberen Bild gezeigt.

Um Spannungen zu reduzieren, muss der Prägeprozess optimiert werden. Dazu wurde in einer Versuchsreihe kontinuierlich die Prägekraft reduziert. Das Ergebnis ist in Abbildung 3.9 zu sehen. In Bild a) ist ein herkömmlich geprägter Rohling (Kraft: 5000 N) zu sehen. Wieder sind deutlich die Spannungsverläufe insbesondere um den Optikkeil herum zu erkennen. Wird die Kraft auf 1000 N reduziert, so ist eine deutliche Abnahme der Spannungen zu beobachten. Die meisten Spannungen treten umlaufend an den Rändern auf. Diese Spannungen können leicht entfernt werden, indem ein sowohl längerer als auch breiter Rohling verwendet wird und das Material mit den verbliebenen Spannungen an den Rändern in einem anschließenden Fräsprozess entfernt wird. So ist ein spannungsfreier Chip möglich. In den Ecken des Rohlings, besonders links unten in Bild b), sind aber Wölbungen in der Oberfläche zu sehen. Diese Wölbungen entstehen durch zu geringe Anpresskraft, so dass die Abformung nicht mehr ausreichend präzise sein kann. Hier stehen noch eingehendere Untersuchungen aus, um den besten Arbeitspunkt (Prägetemperatur, -kraft und -zeit) zu finden, an dem die Strukturen präzise abgeformt und die Spannungen so gering wie möglich sind.

Die Auswirkung der Wölbung des Kanalbodens auf das Strömungsprofil in der Detektionszone wurde simuliert. Dazu ist die Wölbung als Dreieck angenähert worden. An beiden Kanalwänden ist eine Höhe von  $14,8 \mu\text{m}$  gegeben, die der Mittelwert aus rechter und linker Wandhöhe aus der REM-Aufnahme (Abbildung 3.7, a)) ist. Die Höhe in der Kanalmitte beträgt  $12,1 \mu\text{m}$ .

Ein Ergebnis der Simulation ist in Abbildung 3.10 gezeigt. Die Geschwindigkeit  $v$  der Strömung ist entlang eines waagerechten Schnittes durch den Kanalquerschnitt aufgetragen, der genau durch die Hälfte der Kanalhöhe  $d = 12,1 \mu\text{m}$  in der Mitte des Kanalquerschnitts verläuft, also bei einem Abstand von  $6,05 \mu\text{m}$  von der Kanaldecke. D.h. bei  $y = 0$  wird so die maximale Geschwindigkeit  $v_{\text{max}}$  der Strömung genau in der Mitte des Kanals ermittelt. Die Flussrate für diese Simulation betrug  $100 \mu\text{l}/\text{min}$ .



**Abbildung 3.9** a) zeigt einen mit einer Kraft von  $5000 \text{ N}$  geprägten Chip. b) zeigt einen mit einer Kraft von  $1000 \text{ N}$  geprägten Chip. Im Vergleich sind die Spannungen (helle Bereiche) in b) deutlich geringer.

Nach dem Gesetz von Hagen-Poiseuille erhöht sich der Flusswiderstand mit der vierten Potenz der Höhe  $d$ . In der Kanalmitte ist also der Flusswiderstand wesentlich größer als in der Nähe der Seitenwände des Kanals. Dieser Effekt ist deutlich in der Simulation zu sehen. Das Fluid weicht dem höheren Strömungswiderstand aus, hin zu Bereichen nah an den Kanalseitenwänden, so dass die Geschwindigkeit in der Nähe der Kanalseitenwände höher ist. Im Gegensatz zu einem Kanal mit perfekt rechtwinkligem Querschnitt ist die Geschwindigkeit im realen Kanal über die gesamte Breite von  $y$  abhängig. In der Kanalmitte kann die maximale Geschwindigkeit des Strömungsprofils mit  $318 \text{ mm}/\text{s}$  abgelesen werden.

Da die Partikel aufgrund der hydrodynamischen Fokussierung nur durch einen schmalen Bereich der Mitte von etwa  $20 \mu\text{m}$  transportiert werden, ist nur die maximale  $v_{\text{max}}$  in der Mitte ( $y = \pm 10 \mu\text{m}$ ) in Abhängigkeit von der Flussrate interessant für diese Arbeit. Aus weiteren Simulationen ist dafür die empirische Formel gefunden worden.

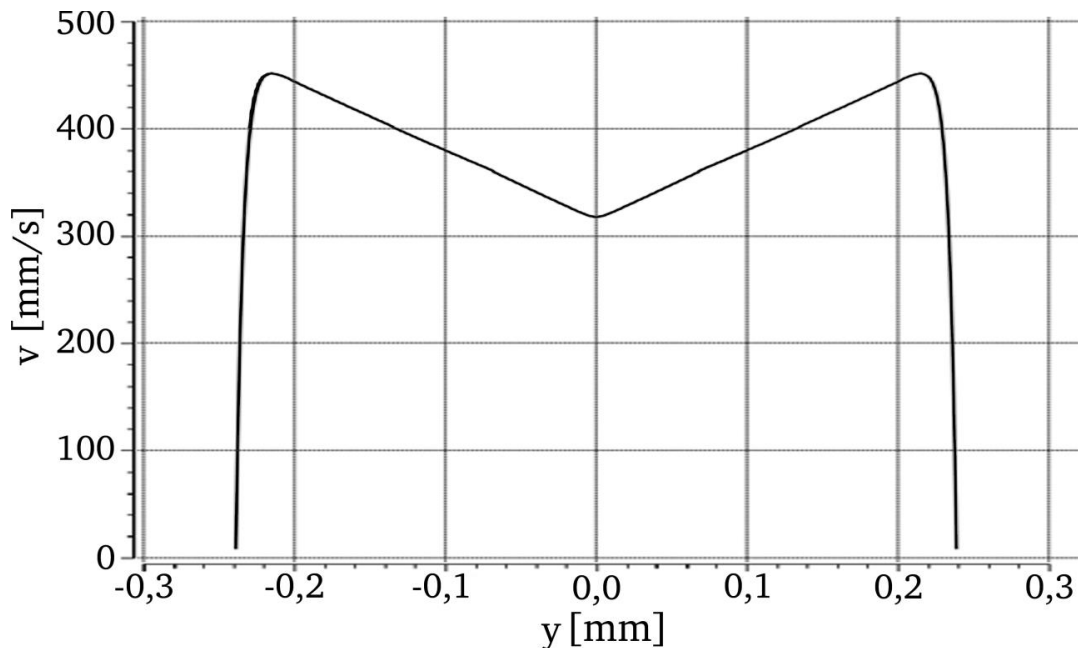
$$v_{\text{max}} = 3,1632 \cdot Q_0 \quad (3.1)$$

Mit Hilfe der Simulation werden auch die Druckverhältnisse im Kanal bestimmt. Der Zusammenhang zwischen der Flussrate und dem Druckgradienten ist

$$\frac{\partial p}{\partial x} = 155,71 \cdot Q_0 \quad (3.2)$$

Aus während der Messungen gesammelten Erfahrungen zeigt sich, dass mikrofluidische Chips, die mit den im oben beschriebenen Verfahren angegebenen Werten gebondet wurden, einer Flussrate von  $Q_0 = 200 \mu\text{l}/\text{min}$  standhalten. Die Länge des Messkanals von der Mitte des Auslasses ( $p = 0 \text{ Pa}$ ) zurück bis zur Mitte des Kanalkreuzes beträgt ungefähr  $64,4 \text{ mm}$ . Aus diesen Werten und mit Formel (3.2) folgt ein Druck im Kanalkreuz von  $2 \text{ MPa}$  ( $20 \text{ bar}$ ). Ein Chip

konnte sogar mit Flussraten von  $400 \mu\text{l}/\text{min}$  betrieben werden, d.h. das Bonding konnte am Kanalkreuz einem Druck von 4MPa (40bar) standhalten.



**Abbildung 3.10** Die Abbildung ist eine Simulation, für die die Durchbiegung des Kanalbodens mit einem Dreieck angenähert wurde. Die Simulation zeigt, dass im Gegensatz zu einem perfekt rechtwinkligen Kanalquerschnitt, im realen Kanal die Geschwindigkeit über die gesamte Breite  $w$  von  $y$ -abhängig ist. Die Geschwindigkeitswerte sind die eines waagerechten Schnitts durch den Kanal in einer Höhe  $s = 0,5$  an der Stelle  $y = 0$ .

Bei Drücken von 20 bar schien es angeraten zu untersuchen, inwieweit sich die Deckelfolie aufwölbt und der Kanal entsprechend verformt. Hierzu wurden Abschätzungen basierend auf den theoretischen Formeln von W.C. Young und R.G. Budynas<sup>41</sup> durchgeführt. Aus diesen Abschätzungen ergeben sich Hebungen der Kanalfolie in der Kanalmitte die kleiner  $0,1 \mu\text{m}$  sind. Der Beitrag der Verformung kann also vernachlässigt werden.

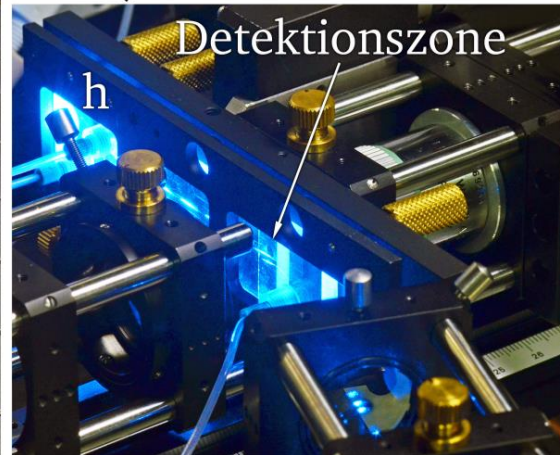
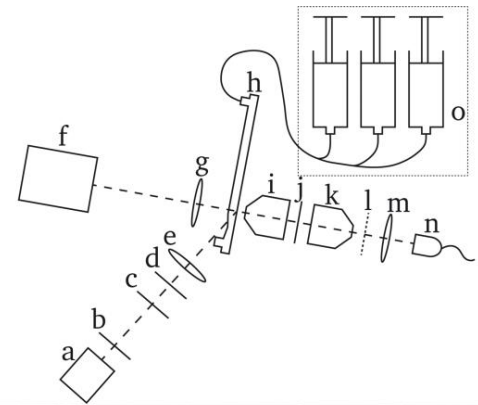
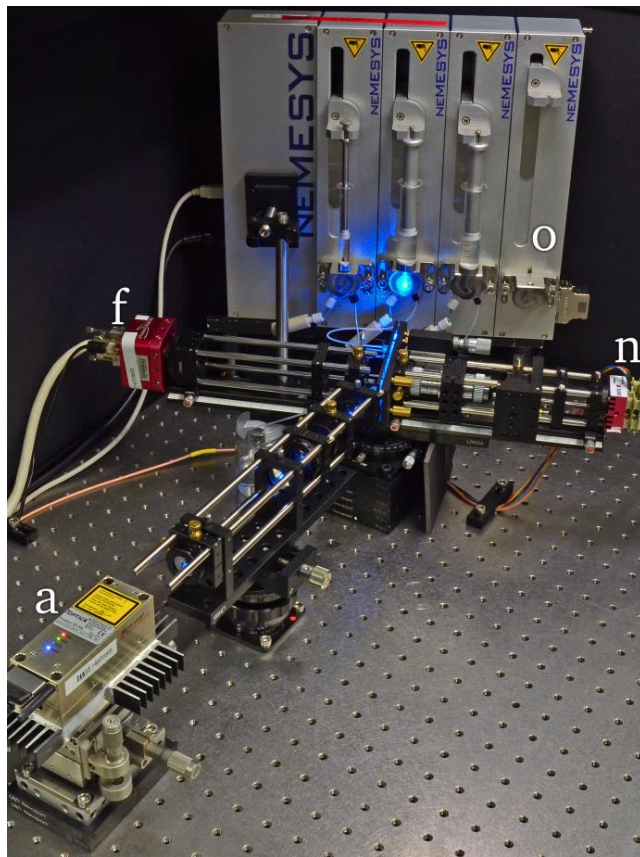
### 3.2. Der experimentelle Aufbau

Das linke Bild von Abbildung 3.11 zeigt eine Fotografie des experimentellen Aufbaus. a) ist ein Laser (Toptica iBeamSmart 488S) der Wellenlänge  $488\text{ nm}$ , einer Standardwellenlänge der Durchflusszytometrie, für die zahlreiche fluoreszierende Farbstoffe erhältlich sind. f) ist eine CMOS-Kamera (Photonfocus MV-D1024E-160-CL-12), die ausschließlich für Justagezwecke verwendet wurde. n) ist eine Avalanche Photodiode (APD, SensL SPMMini 3020X08A1), mit der das Fluoreszenzlicht detektiert wird und o) sind die Spritzenpumpen (Cetoni Nemesys Mitteldruckmodule), die den Chip mit Hüllflüssigkeit und der Probensuspension versorgen. Für die Probensuspension wurden Fluoresbrite® Polychromatic (PC) Red Mikrosphären (Durchmesser:  $5,51\text{ }\mu\text{m}$ , Polysciences Inc.) und SPHERO™ Fluorescent Nile Red Partikel (Durchmesser:  $0,84\text{ }\mu\text{m}$ ,  $2,11\text{ }\mu\text{m}$ ,  $3,30\text{ }\mu\text{m}$ ,  $4,24\text{ }\mu\text{m}$  und  $6,42\text{ }\mu\text{m}$ , Spherotech Inc.) verwendet. Die Größenverteilung der  $5,51\text{ }\mu\text{m}$  Partikel hat nach Herstellerangaben eine Standardabweichung von  $0,122\text{ }\mu\text{m}$ . Die stärkste Absorption des Anregungslichts des Polychromatic Red Farbstoffs liegt bei den Wellenlängen  $491\text{ nm}$  und  $512\text{ nm}$  (Anregungsmaxima). Die Intensität des emittierten Fluoreszenzlichts hat nach Herstellerangaben ein Maximum bei  $554\text{ nm}$  (Emissionsmaximum). Für die Spherotech Partikel gibt es keine Angaben über die Standardabweichungen der Größenverteilung. Das Anregungsmaximum des Nilrot-Farbstoffs liegt bei  $510\text{ nm}$ , das Emissionsmaximum bei  $555\text{ nm}$ .

Die Funktionsweise des Aufbaus lässt sich am besten mit Hilfe der Skizze rechts oben in Abbildung 3.11 erklären. Die gestrichelten Linien zeigen die Lage der optischen Achsen. Der Laserstrahl des Lasers a) ( $100\text{ mW}$ ) wird durch eine Irisblende b) geführt, wodurch störende Reflexe geblockt werden. Anschließend passiert der Laserstrahl einen optischen Interferenzfilter c) (AHF Analysetechnik Laser Clean up Filter ZET 488/10x). Die Polarisation des Laserstrahls wird durch eine  $\lambda/2$ -Platte d) in die Ebene des optischen Tisches gedreht. Dies ermöglicht das annähernd reflexfreie Einkoppeln des Laserstrahls in das PMMA des Plastikchips unter dem Brewsterwinkel (siehe Abbildung 3.5, b)). Durch die Zylinderlinse e) mit einer Brennweite von  $40\text{ mm}$  wird der Laserstrahl in den Chip fokussiert. Der Chip selbst ist in einer Aluminiumhalterung befestigt, wie deutlich im rechten, unteren Bild von Abbildung 3.11 zu sehen ist. Die Halterung dient sowohl dazu, den Chip präzise ausrichten zu können, als auch zur Entlastung des Bondings. Die gebondete Seite des Chips wird auf eine flache Aluminiumfläche gepresst, um ein Aufwölben der Deckelfolie bei Ablösungen im Randbereich auch bei sehr hohem Betriebsdruck ( $20\text{ bar}$ ) zu verhindern. Eine kreisrunde Blende ist in diese flache Aluminiumfläche direkt hinter der Detektionszone gefräst. Direkt vor dieser Blende ist im rechten, unteren Bild ein Reflex des Laserstrahls aus der Detektionszone zu sehen.

Die Zylinderlinse e) und der schräge Einfall des Strahls sorgen für eine elliptische Form der Ausleuchtung der Detektionszone. Die Hauptachse der Ellipse hat eine Länge von  $2200\text{ }\mu\text{m}$  und die Nebenachse  $450\text{ }\mu\text{m}$ , daraus folgt eine Fläche von  $0,01555\text{ cm}^2$ . Etwas unterhalb des Reflexes aus der Detektionszone ist auch ein Reflex vom Eintritt des Laserstrahls am Optikkeil zu sehen. Ein reflexfreier Eintritt in das PMMA ist trotz Brewsterwinkel nicht möglich, da der Laser a) nicht nur senkrecht zum optischen Tisch polarisiert ist, sondern auch waagrecht. Das Verhältnis von waagrecht zu senkrecht ist etwa  $1/100$ , d.h. etwa  $1\%$  der eingestrahnten Laserleistung wird nicht unter den optimalen Bedingungen des Brewsterwinkels eingekoppelt und verursacht einen geringen Reflex. Der Laserstrahl passiert sechs antireflex beschichtete Glas/Luft Grenzflächen und eine PMMA/Luft Grenzfläche, bis er die Detektionszone erreicht. Nehmen wir für jede Grenzfläche einen Verlust von  $1\%$  Leistung an, steht eine Laserleistung von ca  $93\text{ mW}$  in der Detektionszone zur Verfügung. Zusammen mit der Fläche ergibt sich eine durchschnittliche Laserleistung von  $38\text{ W/cm}^2$ .





**Abbildung 3.11** Das linke Bild zeigt ein Foto des experimentellen Aufbaus. a) ist ein Laser, f) eine CMOS-Kamera, n) eine Fotodiode und o) die Spritzenpumpe. Die kleineren Bauteile und die Optiken sind in der Skizze des Aufbaus rechts oben mit weiteren Buchstaben versehen (siehe Text). Das Bild rechts unten zeigt eine Nahaufnahme des mikrofluidischen Chips, eingebaut in die Chiphalterung, während des Betriebs. Deutlich zu erkennen ist ein Reflex des Laserstrahls an der Eintrittsfläche des Optikeils, sowie darüber ein Reflex der ausgeleuchteten Detektionszone im mikrofluidischen Kanal.

Das Fluoreszenzlicht der Partikel, sowie das an den Partikeln gestreute Laserlicht passieren die Blende der Chiphalterung und werden von einem Mikroskopobjektiv i) (Leitz 25x / NA 0.4; 569244) gesammelt (siehe Skizze Abbildung 3.11, oben links). Der Aufbau wird so justiert, dass die Partikel beim Durchströmen der Detektionszone gleichzeitig in der Brennebene des Objektivs sind, so dass das Licht nach dem Durchgang durch das Mikroskopobjektiv parallelisiert ist. Der nachgelagerte Interferenzfilter j) (AHF Analysetechnik BrightLine® HC 578/105) trennt das Fluoreszenzlicht vom gestreuten Laserlicht, so dass das baugleiche, inverse Mikroskopobjektiv k) nur noch das Fluoreszenzlicht auf die räumlich modulierte Maske l) fokussiert. Die Laufstrecken des Lichts zwischen den Mikroskopobjektiven i) und k), sowie des Interferenzfilters j) sind so kurz gehalten, wie es die Metallfassungen der Optiken erlauben, um möglichst wenig Licht zu verlieren. Die Maske l) ist wieder im Brennpunkt des Mikroskopobjektivs k). Durch die Anordnung sowohl der Partikel im Brennpunkt von i), als auch der Maske im Brennpunkt von k), werden die fluoreszierenden Partikel annähernd im Verhältnis von 1/1 auf die Maske abgebildet.

In der Durchflusszytometrie werden häufig fluoreszierende Farbstoffe unterschiedlicher Wellenlänge eingesetzt, z.B. für die so genannte Lebend-Tot-Zählung. Dabei wird die Zellmembran aller Zellen mit einem ersten Farbstoff „angefärbt“. Mit einem weiteren Farbstoff wird der Zellkern toter Zellen angefärbt. Die selektive Anfärbung des Zellkerns der toten Zellen ist möglich, da die intakte Zellmembran der lebenden Zellen die Eindiffusion des Farbstoffes

unterbindet. Detektiert man bei einer Zelle nun koinzident beide Wellenlängen, hat man eine tote Zelle identifiziert. Alle anderen Zellen sind lebende Zellen. Auch für viele andere Anwendungen werden zwei oder sogar mehr Fluoreszenzfarben benötigt. Der Aufbau kann für eine solche Anwendung umgebaut werden, indem der Interferenzfilter j) durch einen dichroitischen Spiegel im Winkel von  $45^\circ$  zur optischen Achse ersetzt wird. Dadurch erhält man die Möglichkeit, das zweite Fluoreszenzlicht vom Ersten zu trennen, da es im Winkel von  $90^\circ$  aus der gemeinsamen optischen Achse herausgespiegelt wird und so getrennt detektiert wird. Auch das an Zellen gestreute Laserlicht kann so vom Fluoreszenzlicht getrennt detektiert werden. Um den experimentellen Aufbau für diese Möglichkeiten nachrüsten zu können, wurde der Laser nicht über einen dichroitischen Spiegel von „hinten“ in die Detektionszone gebracht, sondern räumlich davon getrennt mittels des Optikkeils.

Nach der Maske wird das Fluoreszenzlicht von einer bispärischen Linse (Brennweite  $f = 20\text{ mm}$ ) gesammelt und auf die Detektoroberfläche fokussiert. Hier wird nur näherungsweise eine 1/1 Abbildung realisiert, indem der Detektor aus der Bildebene etwas näher zur Linse geschoben wird. Der Lichtfleck auf der Detektoroberfläche wird dadurch größer und dies verhindert eine Überbelichtung einzelner Pixel.

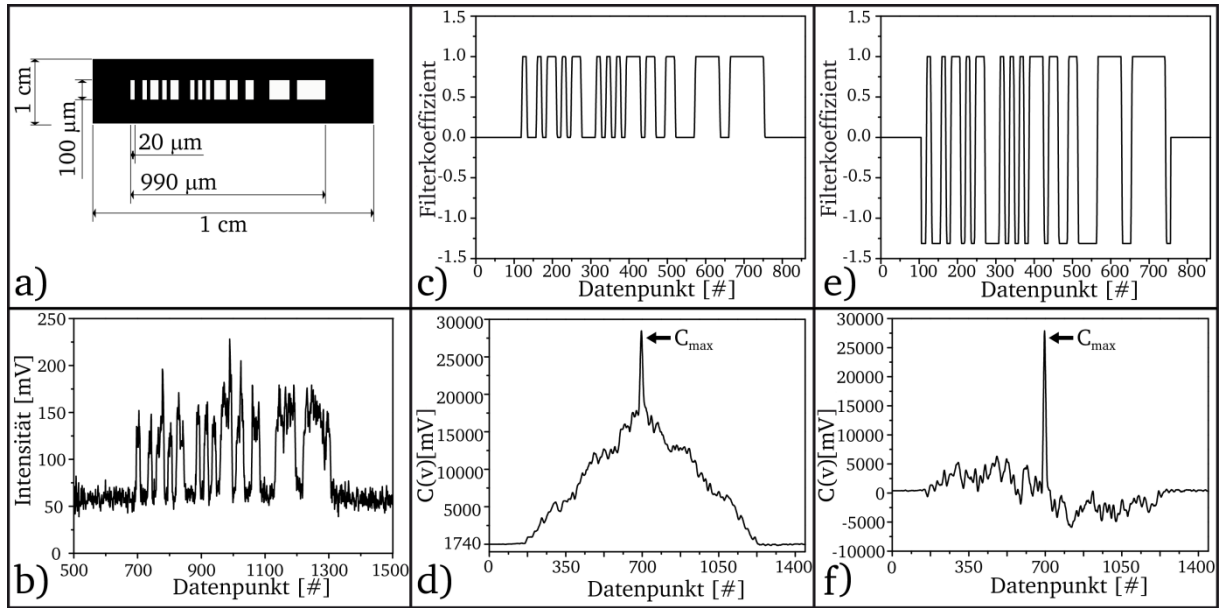
Die bispärische Linse g) ( $f = 20\text{ mm}$ ) zusammen mit der CMOS-Kamera f) dient ausschließlich zur Justage des mikrofluidischen Chips, und insbesondere dazu, die 1/1 Abbildung der beiden Mikroskopobjektive zu justieren.

### 3.3. Die Datenauswertung

Die im Aufbau eingesetzte, räumlich modulierte Maske l) ist in Abbildung 3.12, a) gezeigt. Es ist ein Glasplättchen mit den Außenmaßen  $1\text{ cm} \cdot 1\text{ cm}$ . Dieses Glasplättchen ist mit einer  $100\text{ nm}$  starken Nickelschicht bedampft. Mittig auf dem Glasplättchen sitzt das gezeigte Muster, das  $100\text{ }\mu\text{m}$  breit ist. Die Außenmaße sind deshalb so groß gewählt, um restliches Streulicht abzufangen. Das Muster folgt der Sequenz

$$\begin{aligned} &-1, 1, -1, -1, 1, -1, 1, 1, -1, 1, -1, 1, 1, -1, -1, -1, 1, -1, 1, -1, 1, -1, 1, 1, 1, -1, \\ &1, 1, -1, -1, 1, 1, -1, -1, -1, -1, 1, 1, 1, 1, -1, -1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, -1 \end{aligned} \quad (3.3)$$

wobei der Wert  $-1$  opake- und der Wert  $1$  transparente Abschnitte der Länge  $20\text{ }\mu\text{m}$  auf der Maske repräsentiert. Da der erste und letzte Wert der Maske  $-1$  ist sind der erste und der letzte Abschnitt jeweils opak und die effektiv „sichtbare Länge“ der gesamten Maske beträgt  $990\text{ }\mu\text{m}$ . Bei der im Folgenden beschriebenen Korrelationsanalyse können die führende und die abschließende  $-1$  allerdings nicht vernachlässigt werden. Die Maske hat insgesamt 29 transparente Abschnitte im Vergleich zu 22 opaken Abschnitten, so dass fast 57% des Fluoreszenzlichts transmittiert werden. Die hohe Fluoreszenzlichtausbeute war der maßgebliche Grund für die Wahl dieser Maske, da die in Kapitel 3.3 erläuterte Korrelationsanalyse bei höherer Lichtausbeute auch eine höhere Sensitivität gewährleistet. Die kleinste Abschnitts-/Strukturgröße von  $20\text{ }\mu\text{m}$  wurde entsprechend der angestrebten Kanalhöhe gewählt. Mit dieser Strukturgröße würde selbst ein Partikel der Größe des Kanaldurchmessers noch ein vollständig moduliertes Signal erzeugen, da das Partikel von einem einzelnen, opaken Abschnitt vollständig verdeckt werden kann. In den Experimenten selbst wurden allerdings nur wesentlich kleinere Partikel eingesetzt.



**Abbildung 3.12** a) Bemaßte Skizze der im experimentellen Aufbau verbauten Maske. b) Exemplarisches Detektorsignal für ein Partikel mit  $2\text{ }\mu\text{m}$  Durchmesser. Die von der Maske aus a) vorgegebene Sequenz ist klar nachzuvollziehen. c) und e) sind mögliche Filterfunktionen zur Partikelidentifikation mittels Kreuzkorrelation (siehe Text). d) ist das Ergebnis der Kreuzkorrelation von b) mit c), sowie f) das Ergebnis der Kreuzkorrelation von e) mit b).

Das analoge Detektorsignal wird von einem Digitizer (National Instruments PCI 5922) digitalisiert und die diskreten Datenpunkte  $n$  anschließend aufgezeichnet. Als experimentelles Beispiel ist in Abbildung 3.12, b) das Signal eines Partikels mit einem Durchmesser von  $2\text{ }\mu\text{m}$  gezeigt, das mit einer Geschwindigkeit  $v_p = 465\text{ mm/s}$  in  $2,1\text{ ms}$  durch die Detektionszone mit der Maskenlänge von  $990\text{ }\mu\text{m}$  transportiert wird. Der Digitizer arbeitet mit einer Abtastfrequenz  $f_A = 300\text{ kHz}$  und so entfallen auf das Partikelsignal  $N_p = 639$  Datenpunkte, das sich in einem Detektorsignalausschnitt  $S(n)$  befindet, dessen Länge  $N_s = 2001$  beträgt. Im Allgemeinen hat ein Detektorsignalausschnitt die Form:

$$S(n) = s_n = s_0, s_1, s_2, \dots, s_{N_s}; \quad n = 0, 1, 2, \dots, N_s \quad (3.4)$$

Die Beiträge des Partikels zum Detektorsignal haben eine mittlere Intensität  $I = 75,8\text{ mV}$ ; das Rauschen des Detektorsignals hat eine Schwankungsbreite von  $\sigma_R = 14,4\text{ mV}$ , und somit ergibt sich ein Signal zu Rausch Verhältnis ( $SNR$ ) von  $SNR = I/\sigma_R = 5,3$ ; das Partikelsignal ist also deutlich vom Rauschen unterscheidbar. Das Detektorsignal hat einen Offset  $S_o$  von  $60\text{ mV}$ , der im Wesentlichen durch Streulicht verursacht wird. Die Flanken des Partikelsignals sind aufgrund des endlichen Partikeldurchmessers abgerundet, da die volle Intensität erst vorliegt, wenn das Partikel vollständig vom Detektor gesehen wird. Rechnerisch würden bei der gegebenen Geschwindigkeit und dem Partikeldurchmesser 1,29 Datenpunkte auf jeder Flanke entfallen. Durch sphärische und insbesondere durch chromatische Aberration ist das Bild des Partikels auf der Maske allerdings vergrößert und es werden 4 Datenpunkte pro Flanke gezählt. Nachfolgend werden die wesentlichen Berechnungen der Datenauswertung beschrieben und es wird dargestellt, worauf bei der Implementierung der Auswertung mittels LabView 2011 zu achten ist.

Die RMF-Technik verwendet Filter, und in Abbildung 3.12, c) ist eine Möglichkeit der Wahl eines Filters gezeigt: ein idealisiertes Signal, welches ein Partikel ( $2\text{ }\mu\text{m}$ ) verursachen würde. Idealisiert deshalb, weil es eine gleichbleibende Amplitude von 1 hat und kein Rauschen vorliegt. Der Filter ist auf die Geschwindigkeit des Partikels angepasst, d.h. zusammen mit dem ersten Datenpunkt der linken Flanke bei Datenpunkt 110 und dem letzten Datenpunkt der

Rechten bei 748 entfallen auf das idealisierte Signal genau 639 Datenpunkte. Der Filter selbst besteht aus  $N_p = 639$  Filterkoeffizienten. Die Datenpunkte vor der linken und nach der rechten Flanke in Abbildung 3.12, c) wurden zur Verdeutlichung hinzugefügt. Es wird nun die Kreuzkorrelation nach Gleichung (3.6) des Signals  $S(n)$  aus Abbildung 3.12, b) und des Filter  $F(v, n)$  (Gleichung (3.5)) aus Abbildung 3.12, c)) berechnet ( $n = 0, 1, \dots, N_S - N_p$ ). Das Ergebnis der Kreuzkorrelation  $C(n)$  ist in Abbildung 3.12, d) gezeigt

$$F(v, n) = f_n = f_0, f_1, f_2, \dots, f_{N_p-1} \quad (3.5)$$

$$C(n) = c_n = \sum_{j=0}^{N_p-1} s_{n+j} f_j \quad \text{mit } n = 0, 1, \dots, N_S - N_p \quad (3.6)$$

Die Kreuzkorrelation  $C(n)$  nimmt an der Stelle  $n$  ein Maximum an, an der sich das Partikelsignal und der Filter deckungsgleich überlagern. Dies ist der Peak mit der Amplitude  $C_{max}$  in Abbildung 3.12, d) bei  $n = 682$ . Zur Detektion eines Partikels muss in der RMF-Technik dieser Peak erkannt werden. Über die Abtastfrequenz kann der Zeitpunkt der Detektion ermittelt werden, es muss dabei allerdings berücksichtigt werden, dass das Korrelationssignal weniger Datenpunkte enthält als der Detektorsignalausschnitt  $S(n)$ . Die Anzahl der Datenpunkte des Korrelationsergebnisses sind  $N_K = N_S - N_p + 1 = 1363$ .

Die Amplitude  $C_{max}$  gibt bei diesem Filter die Summe der Fläche des Partikelsignals und der Fläche des Offsets  $S_o$  unter dem Partikelsignal wieder. Die Fläche des Offsets  $S_o$  unter dem Partikelsignal beträgt  $S_o = 1740 \text{ mV}$ . Sie findet Eingang in jedes  $c_n$  und ist damit der Offset der Kreuzkorrelation. Gleichung (3.7) zeigt die Abhängigkeit zwischen  $C_{max}$  und der mittleren Intensität  $I$  im Partikelsignal.

$$C_{max} = \frac{29}{51} N_p (I + S_o) \quad (3.7)$$

Die Maske hat 29 transparente Einzelteile von insgesamt 51 Teilen. An dieser Stelle wird klar, warum bei der Maskenwahl auf einen hohen transparenten Anteil von 57 % geachtet wurde, da dies den Detektionspeak erhöht. Mit Gleichung (3.7) wird vom Detektionspeak auch auf die mittlere Intensität  $I$  des Partikelsignals zurückgerechnet.

Sobald sich beim Berechnen der Korrelation sowohl der Filter  $F(n)$  als auch das Partikelsignal im Detektorsignal  $S(n)$  anfangen zu überlappen ( $n = 59$ ), baut sich der in Abbildung 3.12, d) zu sehende „Berg“ auf, der immer weiter steigt, bis bei  $n = 697$  der scharfe Detektionspeak auf dem Berg entsteht. Danach fällt das Korrelationssignal wieder ab bis zu  $n = 1335$ . Der Berg entsteht, da der Filter nur positive Koeffizienten hat und bei teilweiser Überlappung bereits Partikelintensität aufsummiert wird. Er stört insbesondere dann die Partikeldetektion, wenn unterschiedlich helle Partikel gemessen werden, die sich zeitlich überlappen, da er es erschwert, einen geeigneten Schwellwert für die Partikeldetektion festzulegen. Abhilfe für dieses Problem ermöglicht die Verwendung eines Filters, wie er in Abbildung 3.12, e) gezeigt ist. Dieser Filter wird „balanciert“ oder auch offset-korrigierend genannt, da die von der Filterkurve eingeschlossene, positive Fläche gleich der eingeschlossenen negativen Fläche ist, d.h. die Summe der Filterkoeffizienten ist Null, und da der Signaloffset  $S_o$  mit jedem Filterkoeffizienten multipliziert wird, verschwindet er identisch. Das Korrelationsergebnis von Signal  $S(n)$  (Abbildung 3.12, b)) mit dem balancierten Filter  $F(n)$  (Abbildung 3.12, e)) ist in Abbildung 3.12, f) gezeigt. Die Amplitude  $C_{max}$  des Detektionspeaks ist um  $1740 \text{ mV}$  niedriger, als die in Abbildung 3.12, d), da der Term des Offset  $S_o$  in Gleichung (3.7) entfällt. Auch der Berg entfällt größtenteils aufgrund der gewählten Filterfunktion. Der Grund hierfür ist, dass die Fläche des Partikelsignals durch die Multiplikation teilweise positive und teilweise

negative Vorzeichen bekommt und sich so größtenteils bei der anschließenden Summation gegenseitig aufhebt (siehe Gleichung (3.6)).

Die Fluktuationen neben dem Hauptmaximum im Korrelationssignal von Abbildung 3.12, f) werden nicht durch das Rauschen verursacht, dazu ist der Rauschanteil bei einem  $SNR$  von 5,3 zu gering. Es handelt sich um sogenannte Nebenmaxima der Korrelation. Position und Amplitude dieser Nebenmaxima sind Eigenschaften der zugrundeliegenden binären Sequenz. Aus diesem Grund wurde als Sequenz eine sogenannte „Low Autocorrelation Binary Sequence (LABS)“ ausgewählt. LABS zeichnen sich durch Nebenmaxima mit geringer Amplitude aus. Methoden zur Charakterisierung und Suche nach LABS können bei S. Mertens<sup>42</sup> nachgelesen werden. Ein übliches Kriterium für die Einordnung einer Sequenz in die Klasse der LABS ist das „peak-to-sidelobe-ratio, PSLR“, bei dem die Amplitude des höchsten Nebenmaximums ins Verhältnis zu  $C_{max}$  gesetzt wird. Für das Korrelationssignal aus Abbildung 3.12, f) findet sich ein  $PSLR = 4,7$ .

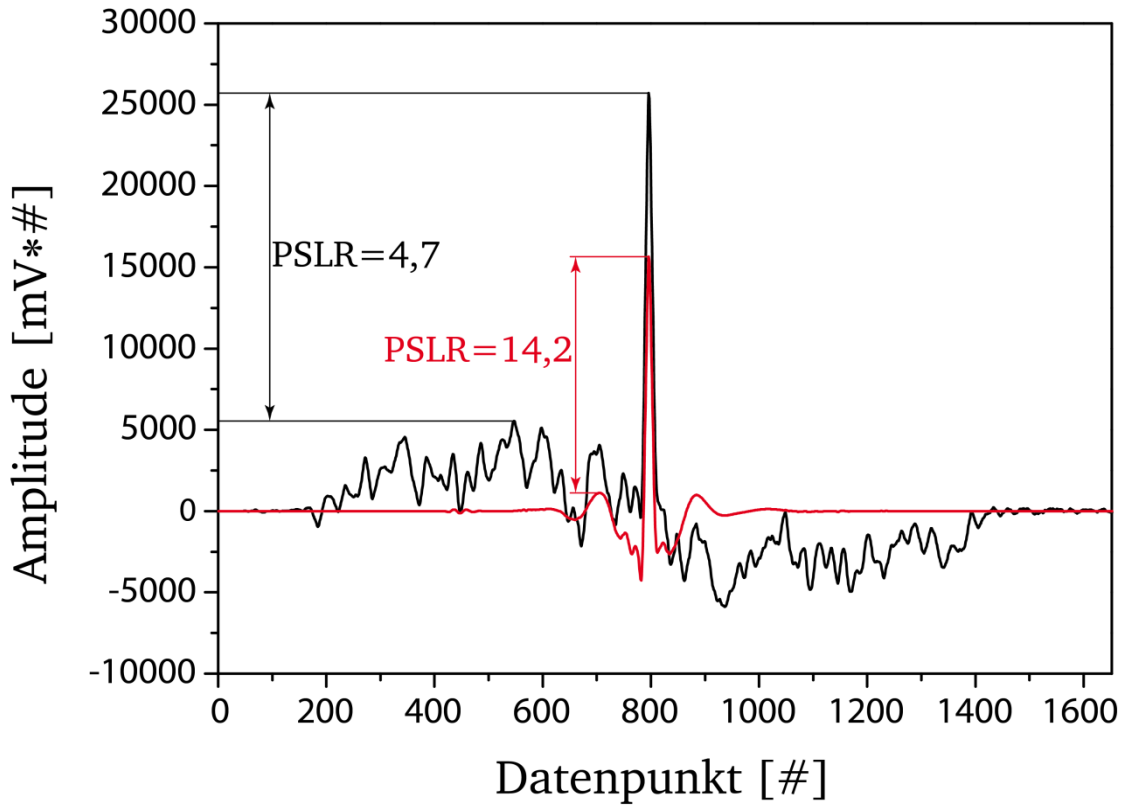
Um sowohl die Reste des Bergs weiter zu reduzieren, als auch das PSLR weiter zu verbessern, wurde eine bereits in LabView 2011 implementierte Routine verwendet, die mit Hilfe einer Wavelet Transformation das Korrelationssignal weiter glättet. Die von dieser Routine verwendete, diskrete Wavelet Transformation mit einem Coif 5 Wavelet ist ausführlich im Buch „The Illustrated Wavelet Transform Handbook“ von Paul S. Addison<sup>43</sup> beschrieben. Die Funktionsweise der verwendeten Routine ist im LabView Wavelet Analysis Toolkit in der Labview-Dokumentation erläutert<sup>44</sup>. Für das Folgende reicht es, sich die Wavelet Transformation wie einen Bandpassfilter vorzustellen, der sowohl niedrig- als auch hochfrequente Anteile des Korrelationssignals unterdrückt und sowohl die langreichweitige Schwankung um den Hauptpeak reduziert, als auch das PSLR verbessert. Das erhaltene, bereinigte Korrelationssignal  $C_d$  ist in Abbildung 3.13 als rote Linie gezeigt und wird dort mit dem ursprünglichen Korrelationsergebnis  $C$  des balancierten Filters verglichen. Man sieht eine deutliche Reduktion der langreichweitigen Schwankung, sowie der Nebenmaxima. Allerdings reduziert die Wavelet Transformation auch die Amplitude des eigentlichen Detektionspeaks. Trotzdem verbessert sich das PSLR um das Dreifache auf 14,2. Mit dem Detektionspeak des Korrelationssignals  $C_d$  werden die Partikel im Programm dieser Arbeit detektiert. Das  $SNR$  des Korrelationssignals  $C_d$  ist offensichtlich wesentlich besser als das  $SNR = 5,3$  des Partikelsignals. Diese deutliche Verbesserung des  $SNR$  ist die große Stärke der RMF-Technik, da sie die Detektion leuchtschwacher Partikel erlaubt. Wie gut dies funktioniert, wird im Kapitel 3.4 genauer beschrieben.

Im diskutierten Beispiel war die Geschwindigkeit des Partikels als bekannt vorausgesetzt. Wie bereits im Kapitel 2.1 besprochen, hängt die Geschwindigkeit der Partikel in einem mikrofluidischen Kanal von den fluidischen Bedingungen ab und man findet in der Realität eine Geschwindigkeitsverteilung für die Partikel selbst wenn ein konstanter Volumenfluss im mikrofluidischen Kanal eingestellt wird. Die Geschwindigkeit eines einzelnen Partikels ist also nicht bekannt, und es muss der gesamte in Frage kommende Geschwindigkeitsbereich abgetastet werden. Hierzu wird der balancierte Filter auf mehrere Geschwindigkeiten gestreckt und so ein Satz von Filtern  $F(v_k, n)$  (Gleichung (3.8)) für den gesamten Geschwindigkeitsbereich erzeugt und mit dem Detektorsignal  $S(n)$  korreliert. Dieser Schritt wird für jeden Zeitpunkt  $t_i$  durchgeführt, wie im Gleichungssystem (3.9) gezeigt

$$F(v_k, n) = f_{nk} = f_{0k}, f_{1k}, f_{2k}, \dots, f_{N-1,k} \quad (3.8)$$

$$\begin{aligned}
C(v_1, t_i) &= c_{i1} = \sum_{j=0}^{N-1} s_{i+j} f_{j1} \\
C(v_2, t_i) &= c_{i2} = \sum_{j=0}^{N-1} s_{i+j} f_{j2} \\
&\vdots \\
C(v_K, t_i) &= c_{iK} = \sum_{j=0}^{N-1} s_{i+j} f_{jK}
\end{aligned} \tag{3.9}$$

Diese  $K$  Korrelationen werden mit der Wavelet Transformation geglättet.  $C_d(v_k)$  ist in Abbildung 3.14 gegen die Geschwindigkeiten  $v_k$  und die Zeit  $t$  aufgetragen. Das Detektorsignal, das für Abbildung 3.14 mit  $k$  Filtern korreliert wurde, beinhaltet ein  $0,84 \mu\text{m}$  Partikelsignal, welches ein  $SNR$  von 0,9 hat. Es wurde hier zu einem dunkleren Partikelsignal gewechselt, da durch den niedrigeren Detektionspeak die Nebenmaxima in der zweidimensionalen Korrelation deutlicher zu sehen sind.

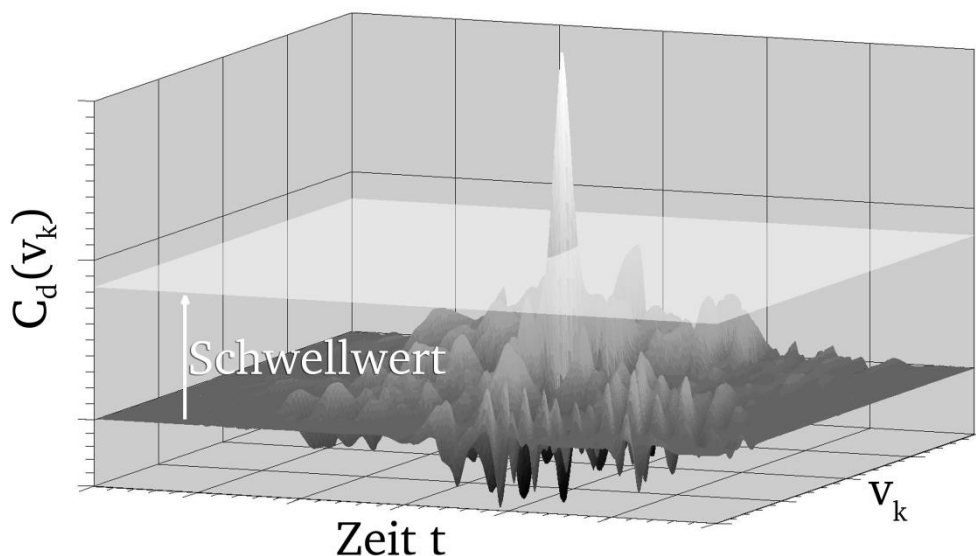


**Abbildung 3.13** Das Korrelationsergebnis aus Abbildung 3.12, f) wird mittels einer Wavelet-Analyse von hoch- und niederfrequenten Anteilen bereinigt. Das Ergebnis ist das rot gekennzeichnete Signal. Bei richtiger Wahl des Frequenzbereichs verbessert sich das PSLR des bereinigten Signals im Vergleich zum Korrelationsergebnis um einen Faktor 3.

Passt die Partikelgeschwindigkeit nicht zu dem  $v_k$ , für das der Filter berechnet wurde, so ist kein ausgeprägter Detektionspeak erkennbar. Wird der Filter dem eigentlichen Partikelsignal ähnlicher, entwickelt sich ein Detektionspeak und erreicht dann bei der Geschwindigkeit sein Maximum, die der Partikelgeschwindigkeit am Nächsten liegt. Damit der höchste Ausschlag des Detektionspeaks entsteht, müssen zwei Dinge beachtet werden:

- Bei der Positionierung der Flanken muss die Rundungsproblematik von diskreten Werten beachtet werden. Je nachdem wie der Filter berechnet wird, können sich solche Rundungsfehler ungünstig aufsummieren, so dass einzelne Flankenpositionen um mehrere Datenpunkte verschoben sind.
- Die Flanken müssen, der Realität entsprechend, abgerundet werden.

Mit Hilfe einer LabView „Peak Finder“ Methode<sup>44</sup>, die auch auf dem Einsatz der Wavelet Transformation beruht, werden in allen  $K$  in Abbildung 3.14 gezeigten Korrelationssignalen Peaks einer bestimmten Breite und Höhe erkannt. Von diesen Peaks wird für jede Korrelation der Höchste gewählt, so dass  $K$ -Werte vorliegen, über die ein Median gebildet wird. Der eigentliche, eingezeichnete Schwellwert liegt dann bei dem 2,5 fachen dieses Medians. Aus der Werteschar der  $K$ -Werte, die den Schwellwert überschreiten und als zusammenhängender Peak erkennbar sind, wird der höchste Wert ausgewählt. Damit ist das Partikel detektiert worden und die Geschwindigkeit  $v_k$  sowie der Zeitpunkt des Auftretens und die mittlere Intensität  $I$  sind gemessen worden. Die minimale Geschwindigkeitsauflösung ist bei dieser Messmethode durch die Abtastrate gegeben. Entfällt auf ein Partikelsignal ein Datenpunkt mehr als auf ein anderes Partikelsignal, da das Partikel langsamer war, so kann das mit einem Filtersatz  $F(v_k)$  gemessen werden, der auf diese minimalen Unterschiede hin ausgelegt ist. In dieser Arbeit wurden die Filtersätze immer auf die maximal mögliche Geschwindigkeitsauflösung hin ausgelegt, d.h. benachbarte Filter/Geschwindigkeiten unterscheiden sich immer in der Länge um genau einen Datenpunkt.

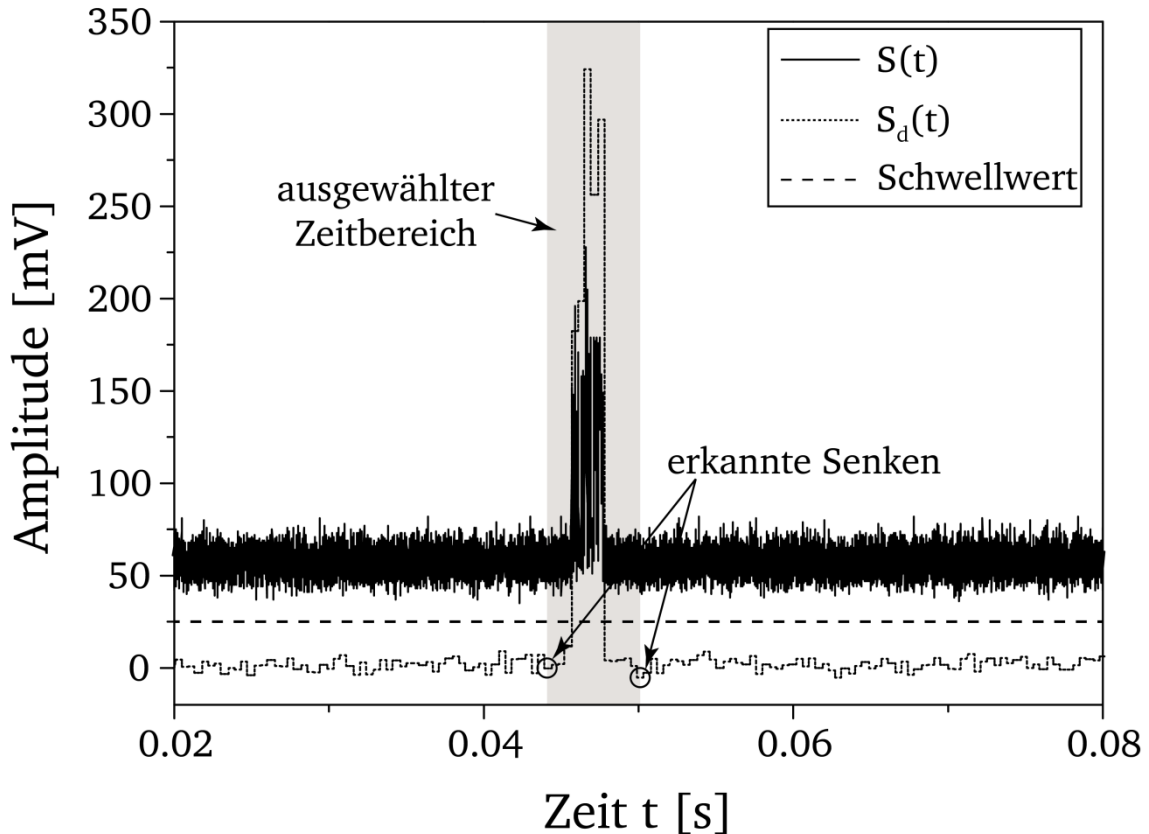


**Abbildung 3.14** Die Matrix aus Korrelationsergebnissen  $C_d(v_k)$  eines  $0,84 \mu\text{m}$  Partikels für  $k$  Geschwindigkeiten  $v_k$  ist dreidimensional dargestellt. Man erkennt so deutlich einen Peak bei der tatsächlichen Geschwindigkeit des Partikels. Wird der Schwellwert von diesem Peak überschritten, wird das Partikel registriert und es werden die Geschwindigkeit, die Amplitude und der Zeitpunkt des Partikeltransits ausgewertet.

Die Rechenzeit für die obige Prozedur wird stark verkürzt, wenn sie nur auf Ausschnitte des Detektorsignals angewandt wird, in denen ein „Verdacht“ auf ein Partikel vorliegt. Dazu verwendet das LabVIEW Programm, das in dieser Arbeit verwendet wurde die folgende Prozedur:



In Abbildung 3.15 ist ein 60 ms langer Detektorsignalausschnitt  $S(t)$  zu sehen, in dem sich ungefähr im Bereich  $0,044 \text{ s} \leq t \leq 0,05 \text{ s}$  das Partikelsignal aus Abbildung 3.12, b) befindet. Auf dieses gesamte Signal wird die LabVIEW Methode angewandt, die mit Hilfe der Wavelet Transformation das Signal glättet. Man erhält das geglättete Signal  $S_d(t)$ . Vor und hinter dem Bereich, in dem  $S_d(t)$  einen festgelegten Schwellwert überschreitet, werden von der bereits erwähnten LabView „Peak Finder“ Methode Senken erkannt, mit deren Hilfe dann ein Zeitbereich ausgewählt wird (grau hinterlegt), dessen Detektorsignal an die oben beschriebene Korrelations-Prozedur weitergereicht wird.

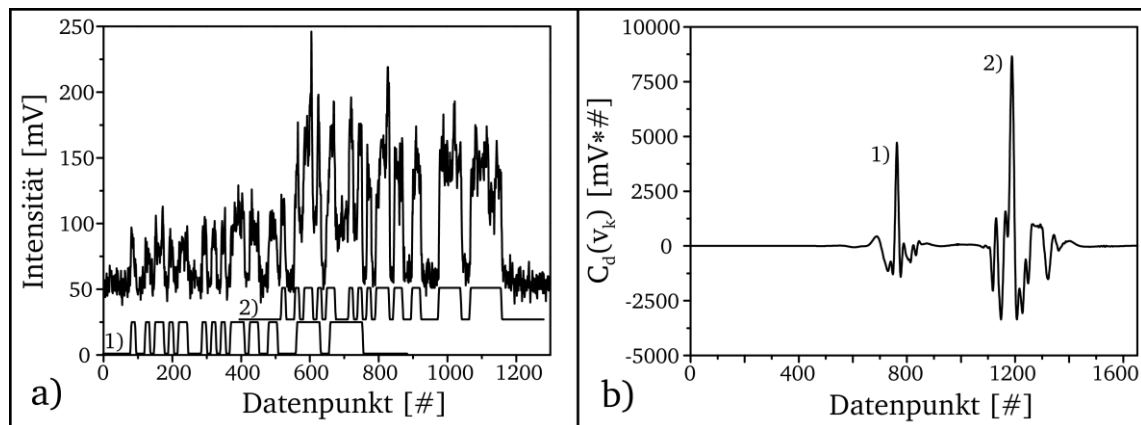


**Abbildung 3.15** Eine Wavelet-Analyse  $S_d(t)$  gibt den Trend des Signals  $S(t)$  eines bestimmten Frequenzbereichs wieder (siehe Text). Passt dieser Frequenzbereich zu dem der Partikelsignatur im Signal, kommt es zu einem Ausschlag in  $S_d(t)$ . Übersteigt dieser Ausschlag einen Schwellwert, sucht die Software die nächste Senke sowohl vor als auch hinter dem Bereich, in dem  $S_d(t)$  den Schwellwert übersteigt. Der Zeitbereich zwischen diesen Senken wird ausgewählt, und nur Signale in solchen Zeitbereichen werden eingehender auf Partikel untersucht.

Die Sensitivität dieser Methode wird rein durch den Schwellwert bestimmt. Wenn dieser tief genug liegt, wird das gesamte Signal mittels der RMF-Technik untersucht. Das Festlegen des Zeitbereichs durch die Senken ist ein einfacher Weg, um noch ein Stück Detektorsignal vor und nach dem eigentlichen Partikelsignal mit in die weitere Verarbeitung zu geben, was die Berechnung der Korrelationen wesentlich vereinfacht.

Neben der Verbesserung des  $SNR$  ist die zweite, große Stärke der RMF-Technik die Möglichkeit, zwei sich gleichzeitig in der Detektionszone befindende Partikel zu erkennen. Abbildung 3.16, a) zeigt den Ausschnitt des Detektorsignals einer solchen Situation. Um Partikel 1) und 2) im Signal zu erkennen, sind unterhalb des Detektorsignals die idealen Signale beider Partikel eingezeichnet.





**Abbildung 3.16** a) Ein Detektorsignal beim Durchgang von zwei  $2\ \mu\text{m}$  Partikeln, die einen Abstand von ungefähr einer halben Maskenlänge hatten. Folglich befanden sie sich gleichzeitig in der Detektionszone. Zur Verdeutlichung ist das ideale Signal von Partikel 1) und 2) unterhalb des Detektorsignals - in dem sich die Partikel additiv überlagern - skizziert. Die skizzierten Signale sind jeweils auf die Partikelgeschwindigkeit angepasst; 2) ist langsamer als 1). b) Das bereinigte und korrelierte Signal  $C_d(v_k)$  der Korrelation von a) mit der Filterfunktion von 1) zeigt, dass für beide Partikel deutliche Peaks auftreten. Zwei gleichzeitig in der Detektionszone vorliegende Partikel können also detektiert werden.

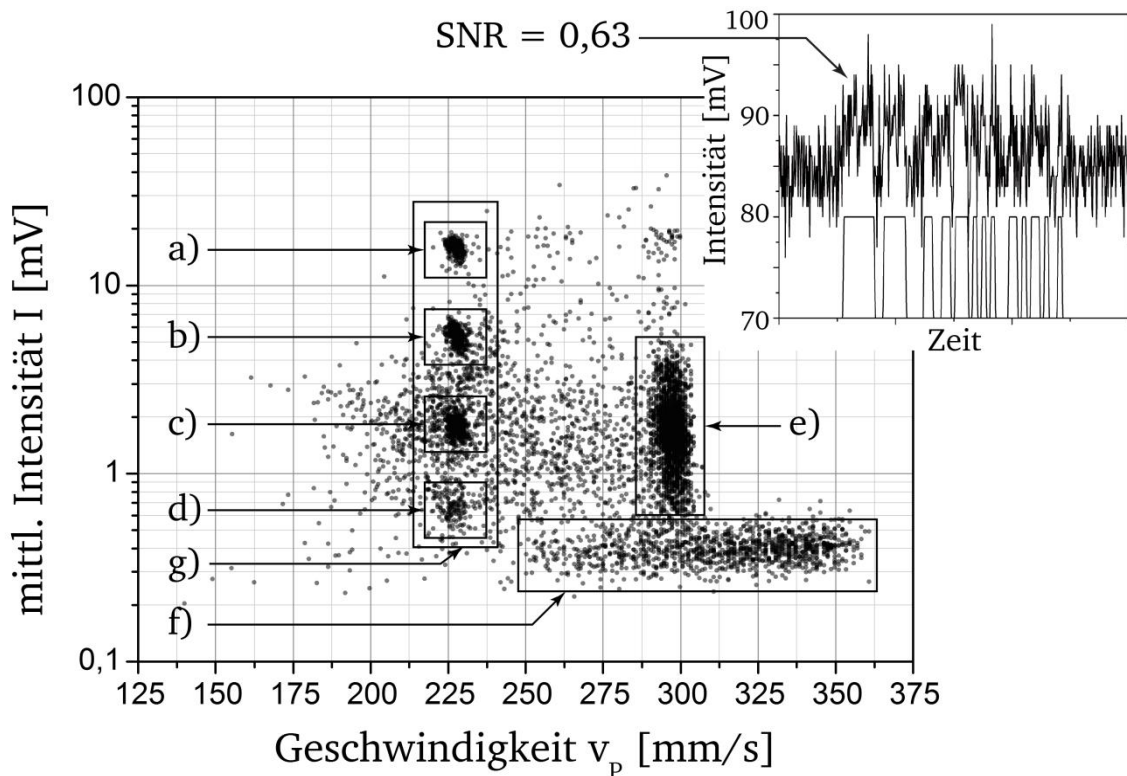
Ein genauerer Vergleich der beiden Signale zeigt, dass Partikel 1) schneller ist als Partikel 2), während Partikel 2) etwas heller ist als Partikel 1). Das geglättete Korrelationsergebnis  $C_d(v_k)$ , mit dem balancierten Filter zur Geschwindigkeit von 1), ist in Abbildung 3.16, b) gezeigt. Man sieht deutlich den Detektionspeak von Partikel 1), aber auch der Detektionspeak von Partikel 2) ist klar zu erkennen. Da die Geschwindigkeit des balancierten Filters nicht die des Partikels 2) ist, sind um den Fuß des Detektionspeaks deutlich mehr Nebenpeaks zu erkennen als beim Detektionspeak von 1). An diesem Bild wird deutlich, dass die beiden Peaks klar voneinander unterscheidbar sind, und deshalb auch mit dem oben beschriebenen Schwellwert vom Programm unterschieden werden können und somit als zwei individuelle Partikel erkannt werden.

### 3.4. Das Detektionslimit

Zur Analyse des Detektionslimits des experimentellen Aufbaus wurden Durchflusszytometrie Kalibrierpartikel (SPHERO™ Rainbow Calibration Particles (RCP-60-5), Spherotech, Inc.) eingesetzt. Diese Partikel haben nach Herstellerangaben einen mittleren Durchmesser von  $6,0\ \mu\text{m}$ , über die Standardabweichung werden keine Angaben gemacht. Während die Partikel also alle gleich groß sind, unterscheiden sie sich in der Menge an enthaltenem, fluoreszierendem Farbstoff. Für die enthaltene Farbstoffmenge ist in der Durchflusszytometrie eine eigene Einheit definiert: Das Verhältnis von absorbierten Anregungslichtphotonen zu emittierten Fluoreszenzphotonen (Quantenausbeute) ist durch kovalente Bindungen des Farbstoffs mit dem Partikel im Vergleich zu frei löslichen Farbstoffmolekülen reduziert. Man misst nun, wieviel frei gelöste Moleküle nötig sind, um die Fluoreszenzintensität eines Partikels zu erhalten. Dies nennt man allgemein „Molecules of Equivalent Soluble Fluorochrome“, kurz MESF. Für die konkrete Einheit muss noch der als Referenz verwendete Farbstoff angegeben werden, z.B. Phycoerythrin, so dass die konkrete Einheit dann „Molecules of Equivalent Phycoerythrin“, kurz MEPE, heißt. Für detailliertere Informationen für diese Einheiten wird an dieser Stelle auf das Lehrbuch von Howard M. Shapiro<sup>2</sup>, Seite 216 verwiesen. In der Rainbow Calibration Partikelsuspension sind Partikelsorten mit sechs verschiedenen MEPE-Werten enthalten:  $I_{p0} = 0$ ;  $I_{p1} = 5397$ ;  $I_{p2} = 21269$ ;  $I_{p3} = 71053$ ;  $I_{p4} = 231090$ ;  $I_{p5} = 696277$ . Die Farbstoff-

mengen sind ausgehend von dem geringsten Mengenwert jeweils verdreifacht, so dass gilt  $I_{Pi} = I_{P1} * 3^{n-1}, (i = 1, 2, \dots, 5)$

Für die Messung wird eine Probensuspension mit deionisiertem Wasser ( $18,2 M\Omega cm$ ) hergestellt, die eine Partikelkonzentration von  $c_p = 500 \text{ \#}/\mu l$  hat. Die Flussrate des Hüllflüssigkeitsstroms betrug  $Q_H = 0,816719 \mu l/s$ , die der Probensuspension  $Q_P = 0,033324 \mu l/s$ , womit sich eine Probenstrombreite von  $w_F \approx 10 \mu m$  ergibt. Die Abtastfrequenz betrug  $f_A = 100 \text{ kS/s}$ . Die 17,5 min dauernde Messung der Probensuspension wurde auf Partikel in einem Geschwindigkeitsbereich von  $125 \text{ mm/s}$  bis  $360 \text{ mm/s}$  von der Auswertesoftware untersucht. In Abbildung 3.17 ist das Ergebnis dargestellt, indem die mittlere Intensität  $I$  des vom Partikel verursachten Signals aufgetragen ist gegen die Geschwindigkeit  $v_p$  des Partikels. Ein solcher Graph wird „Scatterplot“ genannt.



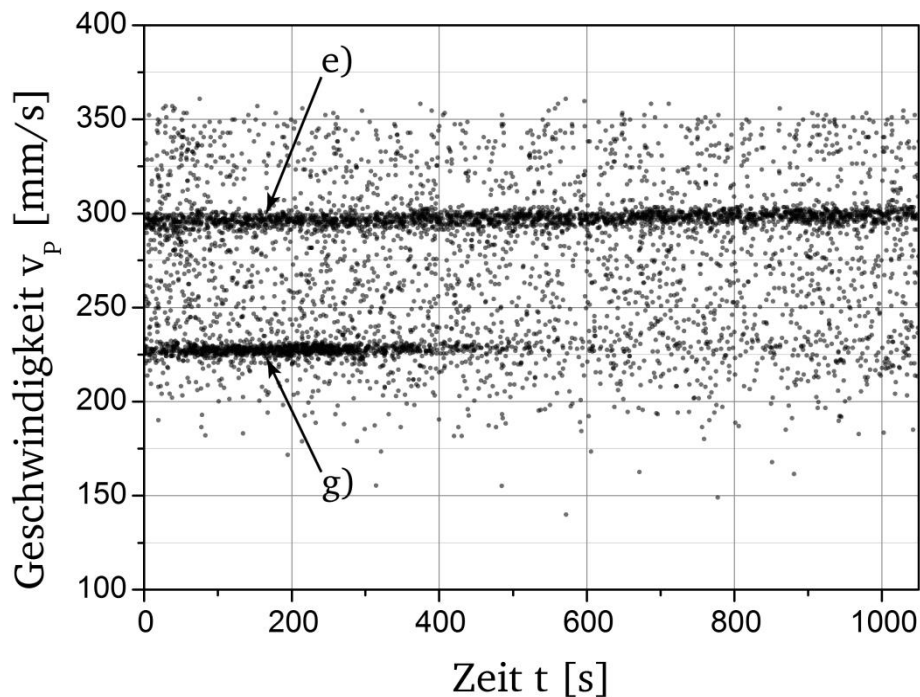
**Abbildung 3.17** Die mittlere Intensität  $I$  jedes einzelnen, gemessenen Partikels ist aufgetragen gegen dessen Geschwindigkeit  $v_p$ . Ein solcher Graph wird „Scatterplot“ genannt. a), b) c), und d) sind Partikelpopulationen der Rainbow Calibration Partikel, e) sind mit Sybr-Gold angefärbte *Marinococcus Luteus* Bakterien und f) sind Fehlerkennungen des Programms. Ein Partikelsignal eines Partikels der Population c) ist im rechten oberen Graph gezeigt. Dieses Signal hat ein SNR von 0,63. Zur Verdeutlichung ist das idealisierte Signal darunter eingezeichnet.

Im Scatterplot der Rainbow Calibration Partikelmessung findet man sechs Verdichtungen von Messwerten, die alle mit einem Buchstaben benannt sind und im folgenden „Populationen“ genannt werden. Die Populationen a), b) c) und d) sind die vier hellsten Rainbow Calibration Partikelsorten. Da die Menge des enthaltenen Farbstoffs Vielfache von drei sind, sind die Abstände der vier Populationen durch die logarithmische Intensitätsskala zur Basis 10 äquidistant.

Die Population e) repräsentiert mit dem Farbstoff Sybr-Gold angefärbte *Marinococcus Luteus* Bakterien, deren Größen kleiner als  $0,5 \mu m$  sind. Diese Bakterien wurden bei einer wesentlich geringeren Flussrate in einer vorangehenden Messreihe untersucht, sind dabei teilweise im Zuführungsschlauch sedimentiert und bei der Messung der Rainbow Calibration Partikel mit

einer höheren Flussrate wieder resuspendiert worden. Um solche Störungen in den Messungen zu vermeiden, wurde bei den folgenden Messungen immer der Probenschlauch vom Chip gelöst und dieser mit der maximal möglichen Flussrate der Spritzenpumpe mit deionisiertem Wasser gespült. Der Schlauch muss gelöst werden, da der Chip den bei solchen Flussraten auftretenden Drücken nicht standhält.

Die Betrachtung der zeitlichen Entwicklung der gemessenen Geschwindigkeit  $v_p$  während des Verlaufs der Messung in Abbildung 3.18 gibt einen weiteren Hinweis, dass es sich bei Population e) um diese Bakterien handelt: Die Dichte dieser Bakterien unterscheidet sich kaum von der Dichte des Wasser, und es werden kontinuierlich Bakterien aus dem Probenzuführungsschlauch ausgespült so dass sie mit gleichbleibender Frequenz über die gesamte Messzeit auftreten. Im Gegensatz dazu klingt die Zählrate für die Polystyren Kalibrationspartikel (Dichte  $1,05 \text{ g/cm}^3$ ) nach 400 s ab, da die Partikel vermutlich im Probenzuführungsschlauch sedimentieren und deshalb nicht mehr in der Detektionszone ankommen<sup>a</sup>. Die zeitliche Entwicklung jeder folgenden Messung wurde anhand solcher graphischer Auftragungen kontrolliert, um eine falsche Messung der Geschwindigkeit durch z.B. Schwankungen der Flussrate zu verhindern.



**Abbildung 3.18** Die zeitliche Entwicklung der Partikelgeschwindigkeiten  $v_p$  der Rainbow Kalibrationspartikel Messung. Die untere Messpunktverdichtung bei ungefähr 225 mm/s repräsentiert die verbundene Partikelpopulation g) aller Kalibrationspartikel. Die *Marinococcus Luteus* Bakterien e) werden durch die Messpunktverdichtung bei ungefähr 290 mm/s repräsentiert. Aufgrund von Partikelsedimentation endet g) nach ungefähr 400 s.

Durch das Anpassen einer Gaußverteilung als Fitfunktion wird von jeder dieser Populationen die Schwerpunktgeschwindigkeit  $v_p$  bestimmt, die in Tabelle 3.1 aufgelistet ist. Die mittlere Schwerpunktgeschwindigkeit der vier Populationen a)-d) beträgt 227,245 mm/s, die Standardabweichung ist  $\pm 0,706 \text{ mm/s}$ . Diese Standardabweichung zeigt gleichzeitig den Fehler

<sup>a</sup> Im Kapitel 3.5 werden weitere Beispiele zur Sedimentation von Partikeln gezeigt, die diese Argumentation stützen.

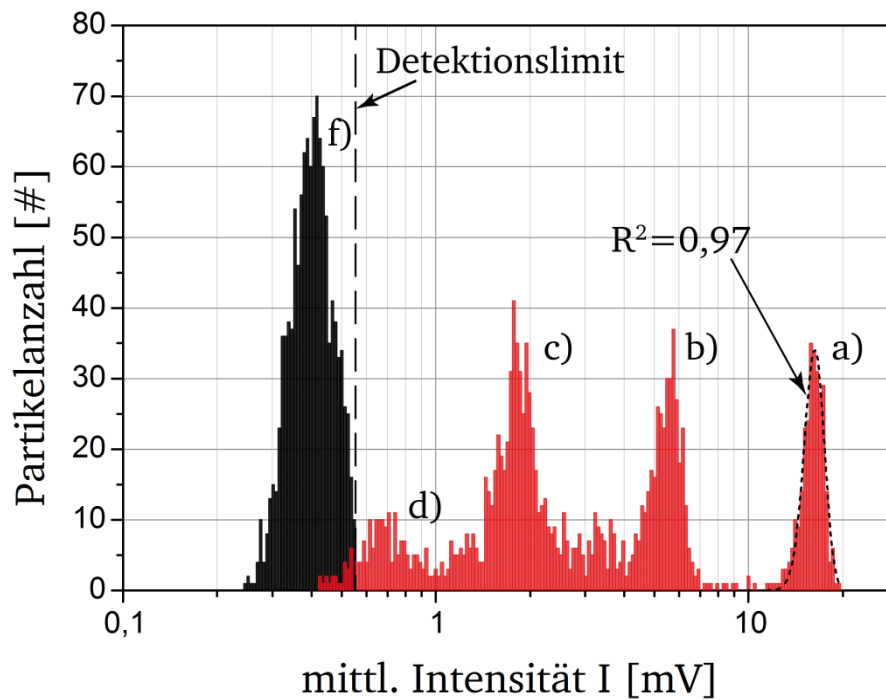
der Geschwindigkeitsmessung in einer Messung, da alle Populationen aus gleich großen Partikeln bestehen und den gleichen fluidischen Bedingungen unterliegen. Der prozentuale Fehler beträgt also 0,3 %. Mit den Ergebnissen von Hur *et al.* (siehe Abbildung 2.8) ist zu erklären, warum die *Marinococcus Luteus* Bakterien ( $v_s = 297,495 \text{ mm/s}$ ) wesentlich schneller sind als die Kalibrationspartikel: große, aber starre Partikel sind der Kanaldecke bzw. dem –boden näher als verformbare kleine und sind somit tendenziell langsamer. Diese Messung zeigt, dass eine Unterscheidung von (verformbaren) Bakterien und (starren) Partikeln anhand der Geschwindigkeitsmessung ohne weiteres möglich ist.

**Tabelle 3.1** Die Tabelle gibt die Schwerpunktsintensität  $I_s$ , die Standardabweichung der Schwerpunktsintensität  $\sigma_{I,s}$ , die Partikelanzahl der Population, die Schwerpunktsgeschwindigkeit  $v_s$  und die Standardabweichung Schwerpunktsgeschwindigkeit  $\sigma_{v,s}$  der Populationen aus Abbildung 3.17 wieder.

Partikel- population	Schwer- punkts- intensität $I_s$	Standard- abweichung Schwerpunkts- intensität $\sigma_{I,s}$	Schwerpunkts- geschwindigkeit $v_s$	Standard- abweichung Schwerpunkts- geschwindigkeit $\sigma_{v,s}$	Partikelanzahl der Population	Farb- stoff- menge
	[mV]	[mV]	[mm/s]	[mm/s]	[#]	[MEPE]
a)	16,27	1,20	227,564	1,351	358	696277
b)	5,55	0,59	227,857	1,725	411	231090
c)	1,84	0,19	227,514	2,669	594	71053
d)	0,69	0,08	226,044	3,696	160	21269
e)	1,81	0,51	297,495	2,914	2159	69582

Bei Population f) in Abbildung 3.17 handelt es sich um Fehlerkennungen. Es war tatsächlich kein Partikel im Signal vorhanden, und es wurde im Rauschen fälschlich ein Partikel erkannt. Dass entsprechende Fehlerkennungen von Partikeln im Rauschen auftreten, wurde anhand eines Detektorsignals, das frei von Partikelsignalen war, überprüft. Die fälschlicherweise als Detektionspeak erkannten Peaks treten dabei bevorzugt bei den höchsten Geschwindigkeiten auf. Entsprechend erkennt man auch bei Population f) eine zunehmende Anzahl von Detektionen bei höheren Geschwindigkeiten. In Abbildung 3.19. ist ein Intensitätshistogramm dieser Population f) und aller Kalibrationspartikel g) gezeigt.

Das Histogramm der Falschdetektionen ist schwarz dargestellt, das der Kalibrationspartikel ist rot. Das absolute Detektionslimit des experimentellen Aufbaus wird nun an der Stelle gesetzt, an der mehr falsche als richtige Detektionen auftreten. Dies ist unterhalb einer mittleren Intensität  $I$  von 0,55 mV der Fall. Die Standardabweichung des Rauschens des Detektorsignals beträgt 2,90 mV, und somit wird das SNR des Detektionslimits bei 0,19 definiert. Die Schwerpunktsintensitäten  $I_s$  der einzelnen Partikelpopulationen werden mittels Anpassung einer Gaußfunktion an die jeweilige Verteilung bestimmt, was beispielhaft an der Partikelpopulation a) durch die gepunktete Linie gezeigt ist. Mit Hilfe der Schwerpunktsintensitäten und der Farbstoffmengen (siehe Tabelle 3.1) kann anhand einer linearen Regressionslinie das absolute Detektionslimit auch in die Einheit MEPE umgerechnet werden. Es liegt bei etwa 15000 MEPE.



**Abbildung 3.19** Die Intensitätshistogramme der Populationen g) (a),b),c) und d), Rot) und f) (Schwarz) aus Abbildung 3.17 sind gezeigt. Um die Schwerpunktsintensitäten  $I_s$  zu bestimmen, werden an die Verteilungen der einzelnen Populationen Gauß-Funktionen angepasst. Als Beispiel ist eine angepasste Kurve (gepunktet) an die Population a) gezeigt, deren  $R^2$ -Wert 0,97 erreicht. Als absolutes Detektionslimit wird die gestrichelte Linie definiert, unterhalb derer mehr Falscherkennungen als tatsächliche Partikeldetektionen auftreten. Sie liegt bei 0,55 mV.

In der Probensuspension liegen alle Partikelsorten in der gleichen Konzentration vor. Die gemessene Partikelzahl pro Population (siehe Tabelle 3.1) zeigt, dass sich dieser Sachverhalt auch in den Partikelanzahlen von a), b) und c) widerspiegelt, die annähernd gleich sind. Insbesondere dann, wenn bedacht wird, dass die Partikelanzahl von b) und c) etwas zu hoch gemessen sind, da auch Messpunkte von *Marinococcus Luteus* Bakterien in die Population einstreuen, die langsamer durch den Kanal transportiert wurden. Die Zählrate der Population d) bricht dagegen deutlich ein. Nimmt man die mittlere Partikelanzahl der Populationen a), b) und c) mit 454 und vergleicht diese mit der Partikelanzahl der Population d) mit 160, so wird deutlich, dass von Partikeln mit einer Signalintensität um 0,69 mV und damit einem SNR von 0,24 rund ein Drittel der tatsächlich durch die Detektionszone geflossenen Partikel gefunden werden. Daher werden in dieser Arbeit zur Geschwindigkeitsuntersuchung nur Partikel mit einer mittleren Intensität  $I$  größer als 1 mV eingesetzt, um eine hinreichend zuverlässige Detektion zu gewährleisten. Ein Beispiel für ein Partikelsignal aus Population c) mit einem SNR von 0,63 ist der Graph in der rechten, oberen Ecke von Abbildung 3.17. Zur Verdeutlichung ist unterhalb des Messsignals ein idealisiertes Signal eingezeichnet.

### 3.5. Der Einfluss der Partikelkonzentration auf die Geschwindigkeitsmessung

In der Messung der Kalibrationspartikel wurde eine Partikelkonzentration in der Probensuspension von  $c_p = 500 \text{ #}/\mu\text{l}$  verwendet, und aus dem Vergleich der verformbaren *Marinococcus Luteus* Bakterien mit den starren Kalibrationspartikeln wurden erste Schlüsse gezogen hinsichtlich der Möglichkeit, aus der Geschwindigkeitsmessung Teilcheneigenschaften wie Größe oder Verformbarkeit zu ermitteln. Es stellt sich nun die Frage, ob sich bei einer vorgegebenen Konzentration die Partikel gegenseitig beeinflussen und dies die Messung der Ge-

---

schwindigkeit  $v_p$  einzelner Partikel und somit auch die Messung der Schwerpunktsgeschwindigkeit  $v_s$  beeinflusst.

Die Wahrscheinlichkeitsverteilung des Eintrittszeitpunkts von Partikeln in den Messkanal für eine gegebene Messdauer ist eine Poisson-Verteilung. Daraus folgt, dass die Wahrscheinlichkeit des Abstands zweier Partikel einer Exponentialverteilung folgt, und dies führt zu einer nicht vernachlässigbaren Häufigkeit von Partikelabständen von einigen Partikeldurchmessern auch bei niedrigeren Partikelkonzentrationen. In diesem Bereich ist eine Wechselwirkung zwischen den Partikeln, vermittelt durch lokale Veränderungen der fluidischen Strömung, durchaus denkbar. Um Fehler der Messung der Schwerpunktsgeschwindigkeit  $v_s$  einer Population durch eine zu hohe Partikelkonzentration  $c_p$  zu vermeiden wurden vier Suspensionen mit unterschiedlichen Partikelkonzentrationen untersucht. Diese vier Suspensionen bestanden aus  $6,42\ \mu\text{m}$  Partikeln (SPHERO™ Fluorescent Nile Red Particles (FP-6056-2), SpheroTech, Inc.) mit den in Tabelle 3.2 aufgezählten Partikelkonzentrationen, die in der Reihenfolge der Tabelle nacheinander gemessen wurden und anschließend die jeweilige Geschwindigkeitsverteilung untersucht wurden. Es wurden die größten für diese Arbeit verwendeten Partikel benutzt, da davon ausgegangen wird, dass diese das Strömungsprofil am stärksten stören. Die eingestellte Flussrate des Hüllflüssigkeitsstroms betrug  $Q_H = 1,633247\ \mu\text{l/s}$ , die der Probensuspension  $Q_P = 0,066648\ \mu\text{l/s}$ , womit sich eine Probenstrombreite von  $w_F \approx 20\ \mu\text{m}$  und eine eingestellte Gesamtflussrate im Messkanal von  $200\ \mu\text{l/min}$  ergeben. Die Höhe des für diese Messung verwendeten Chips SOI-57 betrug in der Mitte  $d = 13\ \mu\text{m}$ . Der Probenstrom hat also eine Querschnittsfläche von  $260\ \mu\text{m}^2$ , und damit lässt sich der mittlere Abstand der Partikel für  $c_p = 100\ \text{\#}/\mu\text{l}$  zu  $38,5\ \text{mm}$  berechnen. Bei solch einem derart großen, mittleren Partikelabstand spielt die Wechselwirkung der Partikel untereinander keine Rolle mehr, allerdings ist die Verdünnung so hoch, dass die Ereignisrate so gering ist, dass es zu lange dauert, um eine ausreichende Statistik zu erhalten. Bei  $c_p = 5000\ \text{\#}/\mu\text{l}$  liegt der mittlere Abstand bei  $0,8\ \text{mm}$ , was weniger als eine Maskenlänge ist und sich dementsprechend viele Partikelsignale überlagern würden.  $c_p = 100\ \text{\#}/\mu\text{l}$  wurde daher als Untergrenze für die zu untersuchenden Konzentrationen gewählt, da eine Partikelwechselwirkung hier sicher auszuschließen ist;  $c_p = 5000\ \text{\#}/\mu\text{l}$  wurde als Obergrenze gewählt, da bei zu vielen überlagerten Partikelsignalen zwangsläufig Fehlerkennungen durch additive Nebenmaxima auftreten. Die Abtastfrequenz für die Messung betrug  $f_A = 250\ \text{ks/s}$ .

Aus der Dauer der Messung  $t_M$  und der Anzahl der gemessenen Partikel ergibt sich die gemessene Partikelkonzentration  $c_M$ , die in Tabelle 3.2 aufgelistet ist. Wird nun das Verhältnis von vorgelegter Partikelkonzentration  $c_p$  und der gemessenen Partikelkonzentration  $c_M$  gebildet, so zeigt sich, dass bei  $c_p = 100\ \text{\#}/\mu\text{l}$  ungefähr ein Viertel der Partikel nicht erkannt werden und bei den beiden nächst höheren etwas weniger als ein Viertel. Auf die Ursache für diese Verluste wird weiter unten eingegangen. Eklatant werden die Partikelverluste bei  $c_p = 5000\ \text{\#}/\mu\text{l}$ : Es wird nur noch ein Zwölftel der tatsächlichen Partikelkonzentration gemessen. Der Grund hierfür liegt in den Eigenheiten der Auswertesoftware. Bei vielen sich überlagernden Partikelsignalen steigt der automatisch generierte Schwellwert derart an, dass für alle Partikel die Peakintensität unter den Schwellwert absinkt und keine Partikel erkannt werden.

Um zu erklären, wo genau die Partikel bei den drei niedrigeren Partikelkonzentrationen verloren gegangen sind, wird der Scatterplot der Partikelsuspension mit  $c_p = 1000\ \text{\#}/\mu\text{l}$  in Abbildung 3.20 genauer betrachtet.

Tabelle 3.2

Die aus den Messungen der vier Suspensionen gewonnene Messdauer und Partikelanzahl ist tabelliert, sowie die daraus errechnete Partikelkonzentration und das Verhältnis dieser zur vorgelegten Partikelkonzentration in der Suspension.

Partikelkonzentration $c_p$ der jeweiligen Suspension	Dauer der Messung $t_M$	Anzahl gemessener Partikel	Errechnete Partikelkon- zentration $c_M$	Verhältnis $c_p/c_M$
[#/μl]	[s]	[#]	[#/μl]	
100	1145,522	1874	25	4,00
500	1025,706	7526	110	4,54
1000	582,906	8804	227	4,41
5000	492,272	13459	410	12,20

Es sind deutlich drei Partikelpopulationen im Scatterplot erkennbar. Die Population mit der niedrigsten Intensität in dem rechts neben dem Scatterplot gezeigten Intensitätshistogramm hat eine Schwerpunktsintensität  $I_s$  von 20,96 mV. Die darüber liegende Population bei  $I_s = 34,26$  mV ist 1,6 mal so hell. Diese Population kann mit Agglomeraten aus zwei 6,42 μm Partikeln erklärt werden, da keine anderen fluoreszierenden Teilchen in der Suspension vorlagen. Kontrollen der Suspensionen unter dem Mikroskop bestätigen die Existenz von Partikelpärchen. Da das eine Partikel das Andere etwas abschattet, ist die Intensität nicht exakt doppelt so hoch. Die hellste Population ist 2,3 mal so hell wie die Dunkelste und wird mit Partikeldrillingen erklärt, die ebenfalls im Mikroskop nachgewiesen werden konnten. Aufgrund der Abschattungen wird auch bei den Drillingen nicht die dreifache Intensität gemessen. Auffälliger Weise findet man unter dem Mikroskop nach der Messung mehr Zwillinge und Drillinge als vor der Messung. Die Bedingungen in der Spritze oder die fluidischen Bedingungen im Zuführungsschlauch und im Messkanal begünstigen also die Zwillinge- und Drillingsbildung.

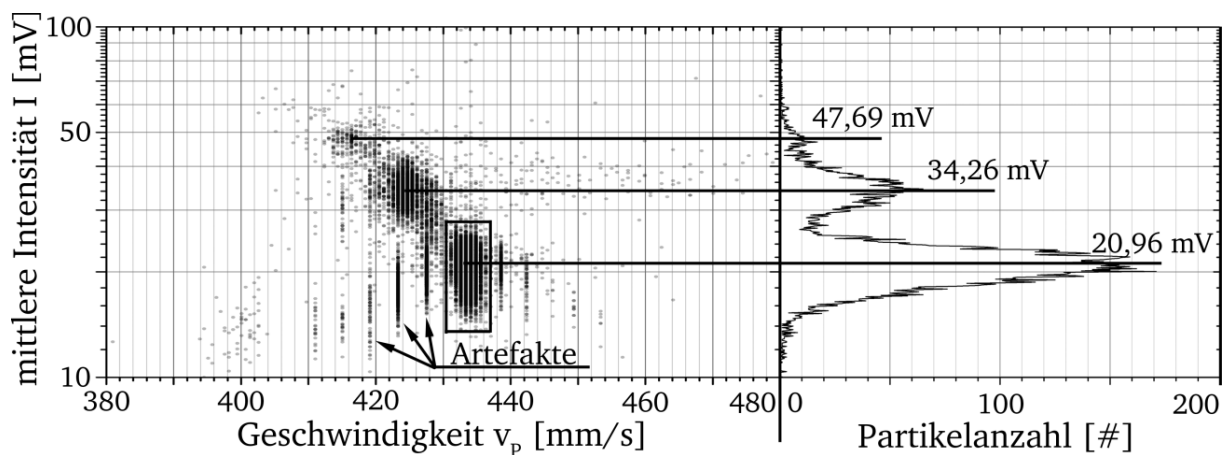


Abbildung 3.20

Der linke Graph zeigt einen Scatterplot einer Suspension ( $c_p = 1000$  #/μl) von 6,42 μm Partikeln. Anhand der mittleren Intensität  $I$ , die der rechte Graph zeigt, können deutlich drei Populationen unterschieden werden. Die Schwerpunktschwindigkeit der Populationen unterscheidet sich ebenfalls (siehe Tabelle 3.3), so dass eine einzelne Population mit dem gezeigten Rechteck isoliert werden kann. Diese Population entsteht durch 6,42 μm Partikel. Die nächst hellere Population entsteht durch Zwillinge aus zusammenhängenden 6,42 μm Partikeln und die hellste durch Drillinge aus zusammenhängenden Partikeln. Die Streifen im Scatterplot sind Artefakte der Geschwindigkeitsmessung, keine Fehldetektionen.

Betrachtet man die Partikelanzahl jeder der drei Populationen (siehe Tabelle 3.3), so ergibt sich ein Anteil von einzelnen Partikeln zu 69,8%, Zwillingen zu 27,1% und Drillingsen zu 3,1% an der Gesamtzahl der detektierten Partikel von 8804. Rechnet man damit auf die Anzahl einzelner Partikel während der Messdauer von 582,906 s zurück, ergibt sich eine rechnerische Partikelkonzentration von 302  $\#/\mu\text{l}$ . Damit reduziert sich die Anzahl an verlorenen Partikeln um ungefähr zwei Drittel. Die verbleibenden Verluste gehen vermutlich auf die Sedimentation in der Spritze oder im Zuführungsschlauch zurück, wie sie auch bei der Messung der Kalibrationspartikel in Abbildung 3.18 beobachtet wurde. Das bedeutet, dass mit größerer Messdauer  $t_M$  der prozentuale Anteil von verlorenen Partikeln steigt.

**Tabelle 3.3** Die Anzahl der Partikel, die Schwerpunktsintensität, sowie –geschwindigkeit der drei Populationen aus Abbildung 3.20 sind tabelliert.

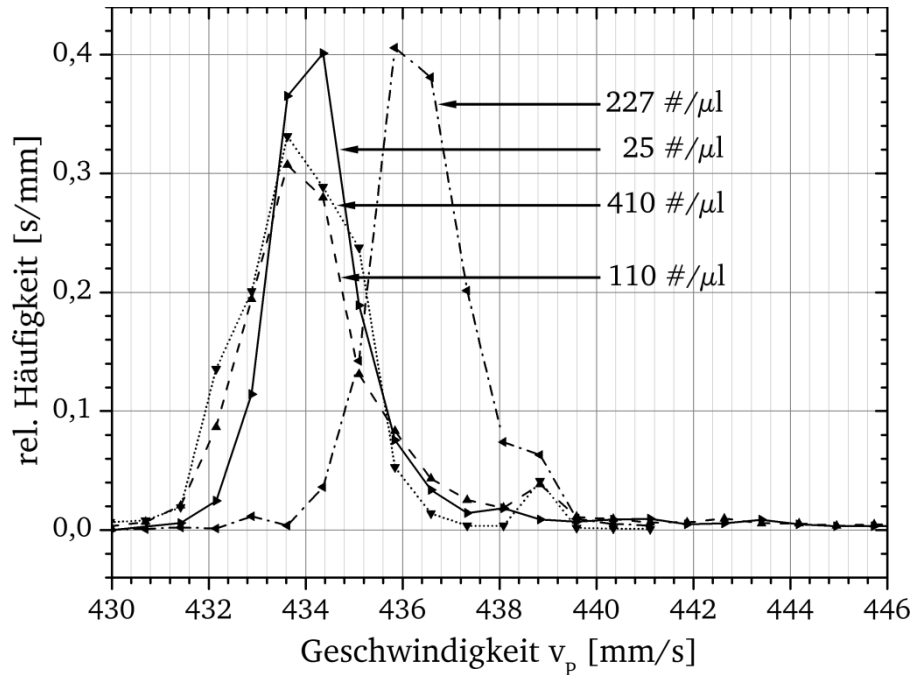
Schwerpunktsintensität $I_S$	Standardabweichung Schwerpunktsintensität $\sigma_{I,S}$	Partikelanzahl der Population	Schwerpunktsgeschwindigkeit $v_S$	Standardabweichung Schwerpunktsgeschwindigkeit $\sigma_{v,S}$
[mV]	[mV]	[#]	[mm/s]	[mm/s]
20,96	2,45	6145	433,621	1,184
34,26	3,33	2386	424,726	1,226
47,69	1,89	273	416,830	0,783

Festzuhalten ist erneut der Unterschied in den gemessenen Schwerpunktsgeschwindigkeiten  $v_S$ . Die sphärischen 6,42  $\mu\text{m}$  Partikel sind die Schnellsten. Die Zwillingpartikel verhalten sich im fluidischen Strom ähnlich wie elliptische oder zigarrenförmige Partikel, was offensichtlich zu einer niedrigeren Schwerpunktsgeschwindigkeit führt. Die Schwerpunktsgeschwindigkeit der Drillingspartikel ist noch niedriger. Dies legt nahe, dass anhand Geschwindigkeitsmessung Hinweise auf die Form von Partikeln gesammelt werden können.

Zur genauen Analyse der Geschwindigkeitsverteilung wird exemplarisch die Population der einzelnen Partikel ausgewählt, wie in Abbildung 3.20 mit dem Rechteck gekennzeichnet. Die Geschwindigkeitshistogramme dieser Population ist für alle vier Suspensionen in Abbildung 3.21 gezeigt. Um Messungen mit unterschiedlich hoher Partikelanzahl und auch unterschiedlich breiten Geschwindigkeitsklassen untereinander vergleichen zu können, wird aus den Zählraten die relative Häufigkeitsdichte berechnet, indem die Zählrate einer Klasse durch die Gesamtzahl der gemessenen Partikel und durch die jeweilige Breite der Geschwindigkeitsklasse geteilt wird. Im Diagramm sieht man deutlich, dass sich drei der vier Messungen fast vollständig überlagern und nur geringfügige Unterschiede in Schwerpunktsgeschwindigkeit  $v_S$  und deren Standardabweichung messbar sind (siehe Tabelle 3.4). Die Geschwindigkeitsverteilung der Suspension mit einer gemessenen Partikelkonzentration  $c_M = 227 \#/\mu\text{l}$  ist die einzige, deren Schwerpunktsgeschwindigkeit  $v_S$  um ungefähr 2 mm/s abweicht, während die Standardabweichung von 1,274 mm/s vergleichbar ist. In Kapitel 4.1 wird anhand von neuen Ergebnissen gezeigt, dass derartige kleine Unterschiede in der Schwerpunktsgeschwindigkeit durch eine temperaturinduzierte Drift in der Viskosität der Flüssigkeit (DI-Wasser) hervorgerufen werden können. Damit ist im untersuchten Konzentrationsbereich kein Einfluss der Partikelkonzentration auf die Messung der Schwerpunktsgeschwindigkeit feststellbar. Für die nachfolgenden Experimente wird eine Partikelkonzentration  $c_P$  von 500  $\#/\mu\text{l}$  gewählt, da für diese ein Konzentrationseinfluss ausgeschlossen werden kann und in Messzeiten  $t_M$  von wenigen Minuten ausreichend Partikel detektiert werden können, um statistisch signifikante Daten zu erhalten. Die senkrechten Streifen in den Populationen in Abbildung 3.20 sind auf die minimale Geschwindigkeitsauflösung bei der Abtastfrequenz von  $f_A = 250 \text{ kS/s}$  zurückzuführen. Dies wird hier noch einmal an einem Beispiel verdeutlicht:



Die beiden Geschwindigkeitsmesswerte der Geschwindigkeitsverteilung  $c_M = 25 \text{ \#}/\mu\text{l}$  aus Abbildung 3.21 mit der höchsten relativen Häufigkeit liegen einmal bei  $v_1 = 434,4 \text{ mm/s}$  und bei  $v_2 = 433,6 \text{ mm/s}$ . Die mit der CMOS-Kamera f) (siehe Abbildung 3.11) gemessene Länge des sichtbaren Teils der Maske beträgt  $0,98155 \text{ mm}$ , auf die sich 49 der 51 Werte der verwendeten LABS-51 Sequenz verteilen, so dass die rechnerische Maskenlänge  $1,021613 \text{ mm}$  beträgt. Aus diesen Werten wird der zeitliche Unterschied der beiden Geschwindigkeiten  $t_2 - t_1 = 4 \cdot 10^{-6} \text{ s}$  berechnet. Bei der gegebenen Abtastfrequenz entspricht dies genau einem Unterschied von einem Datenpunkt.



**Abbildung 3.21** Der Graph zeigt die relativen Häufigkeiten der Geschwindigkeit  $v_p$  von Partikeln der vier gemessenen Suspensionen mit unterschiedlichen Partikelkonzentrationen unter sonst gleichen Bedingungen.

In Abbildung 3.20 sind zudem Artefakte in der Geschwindigkeitsmessung zu erkennen (Pfeile). Es handelt sich um echte Detektionen von Partikeln, für die aber eine falsche Geschwindigkeit ermittelt wurde. Aufgrund der falschen Geschwindigkeit ist auch der gemessene, mittlere Intensitätswert falsch, da bei seiner Berechnung die Anzahl der Datenpunkte  $N_p$ , und damit die Geschwindigkeit  $v_p$  benötigt werden (siehe Gleichung (3.7)). Diese Messfehler gehen auf Rundungsfehler im Algorithmus zurück und treten auf, wenn sich zwei Partikelsignale überlagern. Die Auswirkung der Rundungsfehler kann beseitigt werden, indem die Abtastfrequenz erhöht wird. Entsprechend wurde für die nachfolgenden Messungen die Abtastfrequenz auf  $333 \text{ kS/s}$  erhöht.

**Tabelle 3.4** Die Tabelle listet die aus der Anpassung der Gaußfunktion an die Geschwindigkeitsverteilungen aus Abbildung 3.21 gewonnene Schwerpunktschwindigkeit  $v_s$  auf.

gemessene Partikelkonzentration $c_M$	Schwerpunktschwindigkeit $v_s$
$[\text{\#}/\mu\text{l}]$	$[\text{mm/s}]$
25	$434,1 \pm 0,8$
110	$433,6 \pm 1,3$
227	$435,8 \pm 1,3$
410	$433,6 \pm 1,0$



## 4. Ergebnisse und Diskussion

Im ersten Teil dieses Kapitels wird die Wechselwirkung zwischen Partikel und Fluid anhand der Geschwindigkeitsverteilung untersucht. Dazu wurden die Geschwindigkeitsverteilungen von Partikeln unterschiedlicher Größe in Abhängigkeit von der Kanal Reynoldszahl gemessen. Diese Messreihe wird im Kapitel 4.1 eingehend beschrieben und ausgewertet.

Der zweite Teil dieses Kapitels widmet sich der Fragestellung einer technischen Verwertbarkeit der im Kapitel 4.1 gewonnenen Ergebnisse. Kapitel 4.2 zeigt auf, dass eine Größermessung sphärischer Partikel durch die Messung der Geschwindigkeit möglich ist und unter welchen Bedingungen eine maximale Sensitivität zu erwarten ist. Abschließend wird im dritten Kapitel an Hand einer Messung von SUP-B15 Zellen gezeigt, wie sich die Erkenntnisse für die starren, sphärischen Partikel auf verformbare Zellen übertragen lassen.

### 4.1. Untersuchung der Partikel-Fluid Wechselwirkung

Die in Tabelle 4.1 aufgelisteten Partikeldurchmesser wurden für die in diesem Kapitel beschriebenen Messreihen verwendet. Jede Partikelsorte wurde einzeln charakterisiert, um die Schwerpunktsintensität  $I_S$  festzustellen. Die Population der Partikel mit dem kleinsten Durchmesser von  $0,84 \mu m$  haben eine Schwerpunktsintensität  $I_S = 1,8 mV$ . Die  $0,84 \mu m$  Partikel sind die kleinsten verfügbaren Partikel, deren Intensität über der in Kapitel 3.4 ermittelten unteren Detektionsgrenze von  $1,0 mV$  des experimentellen Aufbaus liegt. Die Partikel mit einem Durchmesser von  $6,42 \mu m$  sind die größten Partikel, die die Engstelle an der Zulaufbohrung noch zuverlässig passieren können (vgl. Kapitel 3.1.5). Die Abstufungen dazwischen sind durch die im Handel erhältlichen Partikelgrößen bestimmt.

**Tabelle 4.1** Die Tabelle zeigt die Durchmesser der verwendeten Partikel. „×“ markiert die Zusammensetzung der Suspensionen, aus jeweils drei verschiedenen Partikeln. Die Angabe für die Schwerpunktsintensität  $I_S$  wurde in einer Messung ermittelt in der jede Partikelsorte einzeln vorlag. Die Schwerpunktsintensität  $I_S$  der  $5,51 \mu m$  Partikel ist höher, als die der anderen Partikel, da diese von einem anderen Hersteller bezogen sind und einen anderen Farbstoff enthalten.

Partikeldurchmesser	Suspension				Schwerpunktsintensität $I_S$
$[\mu m]$	"2.11 $\mu m$ "	"3.30 $\mu m$ "	"4.24 $\mu m$ "	"6.42 $\mu m$ "	$[mV]$
0,84	×	×	×	×	1,8
2,11	×	-	-	-	13,8
3,30	-	×	-	-	37,8
4,24	-	-	×	-	11,0
5,51	×	×	×	×	484,0
6,42	-	-	-	×	40,2

Ideal wäre es gewesen, alle Partikelsorten in einer einzelnen Suspension zu vermessen, da so zuverlässig für jede Partikelsorte exakt die gleichen experimentellen und fluidischen Bedingungen vorgelegen hätten. Da sich allerdings die Schwerpunktsintensitäten  $I_S$  der  $2,11 \mu m$  und der  $4,24 \mu m$  Partikel sowie der  $3,30 \mu m$  und der  $6,42 \mu m$  Partikel nicht hinreichend deutlich voneinander unterscheiden und in Folge dessen die Populationen nicht eindeutig anhand der Intensität hätten unterschieden werden können, wurden die Partikel auf vier verschiedene Suspensionen aufgeteilt. In Tabelle 4.1 ist die Zusammensetzung und Bezeichnung der Suspensionen angegeben.

Die  $0,84 \mu m$  Partikelsorte wurde jeder der vier Suspensionen zugesetzt. Diese Partikel sind klein und damit ist die Wechselwirkung mit dem Fluid schwach, so dass selbst bei der höchst-

ten, verwendeten Reynoldszahl von  $Re_K = 14,9$  Partikel mit annähernd maximaler Geschwindigkeit des Strömungsprofils durch den Kanal strömen. Mit diesen Partikeln konnte also die maximale Geschwindigkeit  $v_{max}$  des Flussprofils gemessen werden. In Tabelle 4.2 ist beispielhaft  $v_{max}$  für die Messreihe mit der  $3,30\ \mu\text{m}$  Suspension für jede eingestellte Flussrate  $Q_0$  aufgelistet.

**Tabelle 4.2** Tabelliert sind die Strömungsbedingungen der Messreihe der  $3,30\ \mu\text{m}$  Suspension.

Eingestellte Flussrate $Q_0$	max. Geschwindigkeit $v_{max}$	Gemessene Flussrate $Q_0$	Kanalreynoldszahl $Re_K$
$\mu\text{l/min}$	$\text{mm/s}$	$\mu\text{l/min}$	
200	659.0	208.3	14.9
150	493.3	155.9	12.0
125	410.2	129.7	9.9
100	328.9	104.0	8.0
75	246.8	78.0	6.0
50	164.5	52.0	4.0
20	43.8	13.9	1.1
15	25.0	7.9	0.6

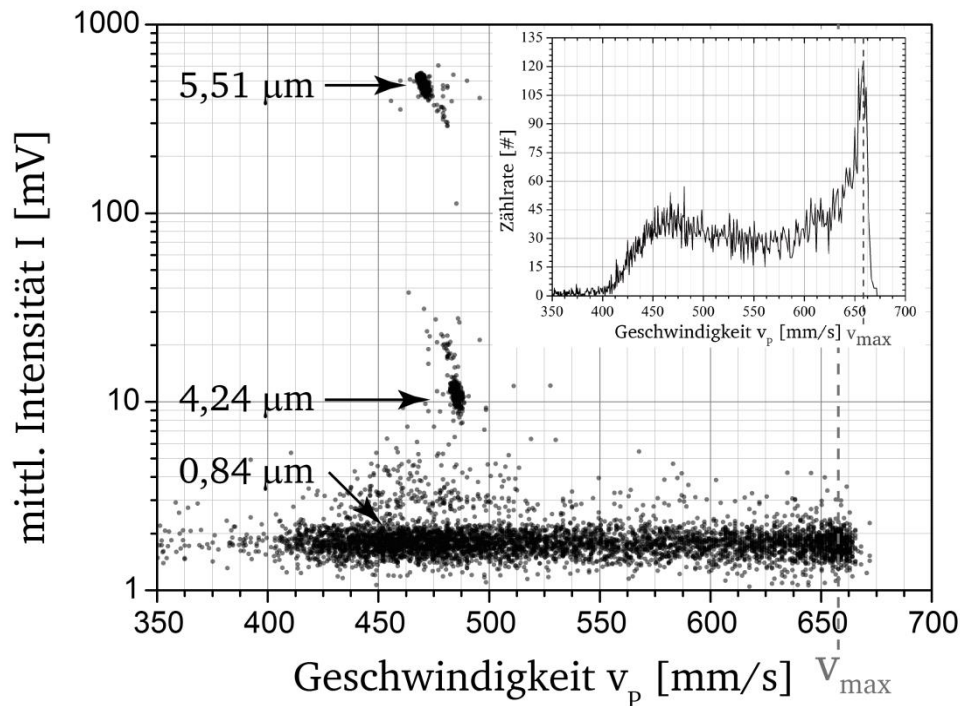
Aus der gemessenen, maximalen Geschwindigkeit  $v_{max}$  wird die gemessene Flussrate  $Q_0$  mit Hilfe von Formel (3.1) berechnet. Bis zu einer eingestellten Flussrate von  $50\ \mu\text{l/min}$  ist die gemessene Flussrate konstant um rund 4 % zu hoch. Bei einer eingestellten Flussrate von  $20\ \mu\text{l/min}$  ist die gemessene Flussrate um rund 31 % zu niedrig, bei einer eingestellten Flussrate von  $15\ \mu\text{l/min}$  ist die gemessene Flussrate dann um 47 % zu niedrig. Geringere Flussraten wurden aufgrund der Partikelsedimentation nicht verwendet. Die Abweichungen von den eingestellten Flussraten liegen deutlich über den Herstellerangaben für die jeweiligen Spritzenpumpenmodule, lassen sich aber mit einer Genauigkeit  $< 0,5\ \%$  reproduzieren. Laut Hersteller liegt die Abweichung von der eingestellten Flussrate daran, dass die Spritzenpumpen durch die hydrodynamische Fokussierung miteinander ein gekoppeltes System bilden und so gegeneinander regeln. Für solche Fälle sind vom Hersteller keine Vorkehrungen getroffen worden. Die Abweichungen zeigen, dass für Messungen mit maximaler Präzision auch die maximale Geschwindigkeit im Strömungsprofil mitgemessen werden muss, um eventuelle Abweichungen verursacht durch die Spritzenpumpensteuerung zu erkennen.

Jede der vier Partikelsuspensionen enthält ebenfalls die  $5,51\ \mu\text{m}$  Partikelsorte als zweite Referenz zum Vergleich der Messreihen. Die  $5,51\ \mu\text{m}$  Partikel sind dafür sehr gut geeignet, da sie bei der gleichen Laserleistung heller fluoresziert als alle anderen Partikel. Dies liegt an der intensiven Färbung (siehe Kapitel 3.2), die dazu führt, dass die Schwerpunktintensität der Population um eine Größenordnung heller als die aller anderen Populationen ist; eine eindeutige Unterscheidung ist also zuverlässig möglich. Ansonsten enthält eine Suspension entweder die  $2,11\ \mu\text{m}$  Partikelsorte, die  $3,30\ \mu\text{m}$  Partikelsorte, die  $4,24\ \mu\text{m}$  Partikelsorte, oder die  $6,42\ \mu\text{m}$  Partikelsorte und ist dementsprechend auch benannt.

Jede Suspension wurde mit den in Tabelle 4.2 eingestellten Flussraten vermessen, allerdings nicht in aufsteigender, sondern in folgender Reihenfolge:  $200\ \mu\text{l/min}$ ,  $100\ \mu\text{l/min}$ ,  $15\ \mu\text{l/min}$ ,  $125\ \mu\text{l/min}$ ,  $20\ \mu\text{l/min}$ ,  $150\ \mu\text{l/min}$ ,  $75\ \mu\text{l/min}$ ,  $50\ \mu\text{l/min}$  und  $200\ \mu\text{l/min}$ . Diese Reihenfolge wurde gewählt, um im Probenzuführungsschlauch sedimentierte Partikel nach der Messung bei einer geringen Flussrate mit einer höheren Flussrate aufgrund der höheren Strömungsgeschwindigkeiten im Probenzuführungsschlauch zu resuspendieren. Die  $200\ \mu\text{l/min}$  Messung am Ende ist eine Wiederholung der Startmessung, um eventuelle Veränderungen der Messbedingungen über den Zeitraum der Messreihe oder Degenerationen des

Messaufbaus erkennen zu können. Diese Sequenz der Flussrate wird erst für die  $2,11\ \mu\text{m}$  Suspension, dann für die  $3,30\ \mu\text{m}$  Suspension, dann für die  $4,24\ \mu\text{m}$  Suspension und schließlich für die  $6,42\ \mu\text{m}$  Suspension wiederholt, so dass das gesamte Experiment aus vier Messreihen besteht, die an einem Tag durchgeführt wurden.

Abbildung 4.1 zeigt exemplarisch den Scatterplot einer Messung mit einer Flussrate von  $208,3\ \mu\text{l}/\text{min}$  ( $Re_K = 14,9$ ) aus der Messreihe der  $4,24\ \mu\text{m}$  Suspension. Man sieht deutlich drei dominante Populationen. Zudem deuten sich Nebenpopulationen von Zwillingen und Drillingen an, besonders deutlich erkennbar oberhalb der  $0,84\ \mu\text{m}$  Population.

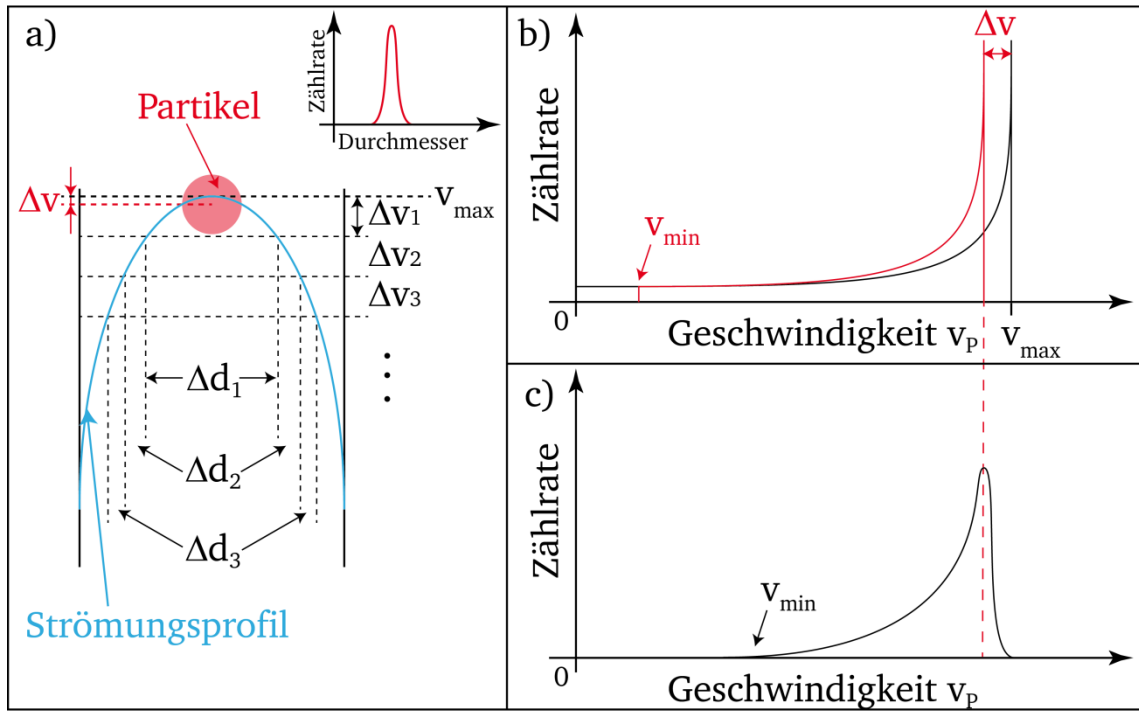


**Abbildung 4.1** Scatterplot einer Messung der  $4,24\ \mu\text{m}$  Suspension bei einer Kanal Reynoldszahl von  $Re_K = 14,9$ . Zu sehen sind die drei Populationen der enthaltenen Partikelsorten  $5,51\ \mu\text{m}$ ,  $4,24\ \mu\text{m}$  und  $0,84\ \mu\text{m}$ . Der eingesetzte Graph in der rechten, oberen Ecke zeigt das Geschwindigkeitshistogramm der  $0,84\ \mu\text{m}$  Population. Die gestrichelte Linie markiert die mittels der  $0,84\ \mu\text{m}$  Partikel gemessene, maximale Geschwindigkeit  $v_{\text{max}}$  des Strömungsprofils.

Alle drei Populationen zusammen genommen beinhalten 5843 Datenpunkte. Davon gehören 3921 zur  $0,84\ \mu\text{m}$  Population, 351 zur  $4,24\ \mu\text{m}$  Population und 281 zur  $5,51\ \mu\text{m}$  Population. Bei der gegebenen Flussrate und der Messdauer von  $3\ \text{min}$  wären 3984 der  $0,84\ \mu\text{m}$  Partikel erwartet worden, was einem Verlust von  $1,5\ \%$  entspricht. Diese gehen aufgrund des Schwellwerts bei der Datenauswertung verloren. Sedimentationsverluste werden mittels mikroskopischer Auszählung sowohl vor als auch nach der Messung einer Suspension für die  $0,84\ \mu\text{m}$  Partikel bei dieser Flussrate ausgeschlossen. Die restlichen 1290 Datenpunkte des Scatterplots gehören zu den Nebenpopulationen. Die deutlich geringere Anzahl an Datenpunkten der Populationen der beiden größeren Partikelsorten ist auf Sedimentation im Probenzuführungsschlauch zurückzuführen. Diese Sedimentation verhindert auch die Messung von  $4,24\ \mu\text{m}$  Partikeln bei Kanal Reynoldszahlen unterhalb von  $1,0$ , für  $5,51\ \mu\text{m}$  Partikel unterhalb von  $4,0$  und für  $6,42\ \mu\text{m}$  Partikel unterhalb von  $5,0$ .

Der eingesetzte Graph in der rechten, oberen Ecke von Abbildung 4.1 zeigt die Geschwindigkeitsverteilung der  $0,84\ \mu\text{m}$  Population. Wie eine solche Verteilung zu Stande kommt, wird anhand der Skizzen in Abbildung 4.2 erklärt:

Teilt man die Geschwindigkeitsachse in Klassen konstanter Breite auf  $\Delta v_1, \Delta v_2, \Delta v_3 \dots$ , wie in a) gezeigt, so sieht man, unterstützt durch die gestrichelten Linien, dass zu diesen Geschwindigkeitsklassen aufgrund des parabolischen Strömungsprofils (blau), unterschiedlich große Klassen der Kanalhöhe  $\Delta d_1, \Delta d_2, \Delta d_3 \dots$  gehören. Zu der Klasse  $\Delta v_1$  bei der höchsten Geschwindigkeit  $v_{max}$  gehört die Klasse  $\Delta d_1$ , die den größten Bereich der Kanalhöhe einnimmt. Jede weitere Klasse der Kanalhöhe wird sukzessive kleiner.



**Abbildung 4.2** a) Die blaue Linie ist das parabolische Strömungsprofil. Die Geschwindigkeit wird, wie gezeigt, in äquidistante Klassen eingeteilt. Die zu diesen Geschwindigkeitsklassen gehörenden Klassen der Höhe  $\Delta d_i$  des Kanals werden durch die Schnittpunkte der Geschwindigkeitsklassen mit dem Strömungsprofil definiert und sind damit nicht äquidistant. b) Die schwarze Linie skizziert eine Geschwindigkeitsverteilung eines punktförmigen Teilchens mit den Geschwindigkeitsklassen aus a), rot eine mögliche Verteilung des roten Partikels aus a), das eine endliche Ausdehnung hat. c) Skizziert eine reale Verteilung des roten Partikels unter Berücksichtigung der in a) gezeigten endlichen Ausdehnung des roten Partikels. Durch die endliche Ausdehnung kann das Partikel nicht das theoretische Geschwindigkeitsmaximum der Strömung erreichen. Dieser Umstand wird in b) durch die um  $\Delta v$  unterschiedliche Position des Maximums in der Verteilung berücksichtigt.

Auf punktförmige Partikel ( $D_p \rightarrow 0$ ) wirken keine lateralen Kräfte und deswegen würden diese weder Wandmigration noch Inertialmigration ausführen. D.h sind diese Partikel beim Eintritt in den Kanal statistisch gleich über die Kanalhöhe  $d$  verteilt, so ändert sich diese Gleichverteilung nicht, während sie durch den Messkanal strömen. Würden solche Partikel in der Detektionszone detektiert, befänden sich nach für die Statistik ausreichend vielen Partikel-detektionen die meisten in der Klasse  $\Delta d_1$ , da diese Klasse den größten Anteil des Kanalquerschnittes einschließt. Daraus ergibt sich das Maximum in der Verteilung in Klasse  $\Delta v_1$ . Eine rechnerische Simulation dieses Gedankenexperiments liefert die schwarze Geschwindigkeitsverteilung in Abbildung 4.2, b). Für Partikel exakt einheitlicher Größe ist die Kante der Verteilung bei der maximalen Geschwindigkeit scharf und für  $D_p \rightarrow 0$  kommen die Partikel der Wand so nah, dass alle Geschwindigkeiten von null bis  $v_{max}$  existieren.

Wären die Partikel nun nicht mehr punktförmig, sondern besäßen alle genau den gleichen Durchmesser ( $D_p > 0$ ), aber immer noch ohne eine Wechselwirkung mit dem Strömungsprofil, so würden diese Partikel immer die Geschwindigkeit der Stromlinie durch ihren Schwerpunkt annehmen. Es wären dadurch hauptsächlich zwei Veränderungen in der Geschwindigkeitsverteilung beobachtbar, die mit der roten Linie in b) skizziert sind:

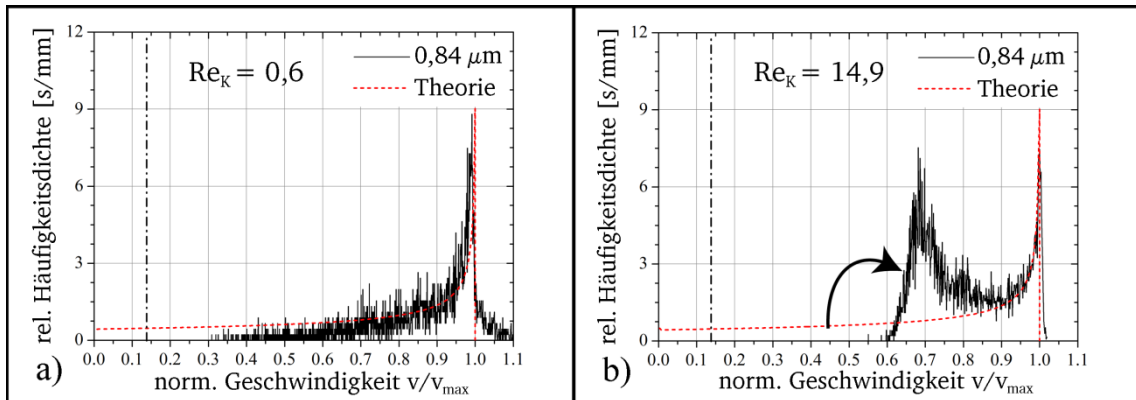
Zum einen gäbe es eine scharfe, minimale Geschwindigkeit, da die Geschwindigkeit der Stromlinie durch den Partikelschwerpunkt aufgrund der Partikelausdehnung nicht null ist für Partikel, die die Wand berühren. Zum anderen wäre die maximale Geschwindigkeit um  $\Delta v$  reduziert, da, wie in a) durch das rote Partikel gezeigt, das Flussprofil durch die Partikelausdehnung für das Partikel abgeflacht wirkt.

In der Realität haben Partikel immer eine Größenverteilung. Wenn nun der Durchmesser des roten Partikels aus a), wie rechts oben skizziert, einer Gaußverteilung folgt, so wird auch die scharfe Kante der Geschwindigkeitsverteilung durch die Gaußverteilung verschmiert, entsprechend der Darstellung der Geschwindigkeitsverteilung in c). Die Lage des Peaks bei der maximalen Geschwindigkeit ist aber immer bestimmt durch den am häufigsten vorkommenden Partikeldurchmesser, was die senkrechte, gestrichelte, rote Linie andeutet. Selbst bei sehr niedrigen Flussraten und damit kleinen Kanalreynoldszahlen kann ein einzeln durch den Kanal strömendes Partikel nicht die Wand berühren, da die von der Wand abstoßende Kraft bei Kontakt unendlich wäre. Somit verschiebt sich die minimale Geschwindigkeit  $v_{min}$  nochmals zu höheren Geschwindigkeiten und auch hier verschmiert die klare Kante durch die gaußförmige Partikelgrößenverteilung.

Die Messung der maximalen Geschwindigkeit des Strömungsprofils erfolgt nun, indem dem Peak bei der höchsten Geschwindigkeit der Geschwindigkeitsverteilung der  $0,84 \mu m$  Partikel eine Gaußverteilung angepasst wird und die mittlere Geschwindigkeit dieser Anpassung als  $v_{max}$  definiert wird. So ist die in Abbildung 4.1 mit der gestrichelten Linie eingezeichnete Geschwindigkeit  $v_{max}$  aus dem Geschwindigkeits-Histogramm (dargestellt in der rechten, oberen Ecke) gewonnen worden. Durch das Normieren jeder gemessenen Geschwindigkeitsverteilung auf die dazugehörige, maximale Geschwindigkeit werden die Verteilungen von verschiedenen Kanalreynoldszahlen miteinander direkt vergleichbar.

Abbildung 4.3, a) zeigt die normierte Geschwindigkeitsverteilung der  $0,84 \mu m$  Partikel bei einer Kanalreynoldszahl  $Re_K = 0,6$  und b) bei  $Re_K = 14,9$ . Die Geschwindigkeitsverteilungen werden mit der theoretischen Geschwindigkeitsverteilung (rote, gestrichelte Linie) für Partikelchen verglichen und die senkrechte, strichgepunktete Linie gibt die Geschwindigkeit des errechneten Wandkontakts für  $0,84 \mu m$  an. Die Verteilung in a) entspricht der einer Gleichverteilung der Partikel über die Kanalhöhe, wie sie in Abbildung 4.2, c) modellhaft gezeigt wurde. Deutlich zu sehen ist eine schwache Wandmigration, aufgrund derer die Partikel vom theoretischen Wandkontakt bei  $v/v_{max} = 0,13$  weg bis zu  $v/v_{max} = 0,3$  „ausgeräumt“ sind. Diese Verteilung liefert auch die wichtige Information, dass die Partikel am Anfang des Messkanals tatsächlich über die Höhe statistisch gleichverteilt sind und wir keinen Effekt bedingt durch die Probenzuführung messen. Die Partikel sind bis zur Detektionszone nahezu unbeeinflusst von der Strömung transportiert worden. Bei höheren Reynoldszahlen wird sich zuerst ein Einfluss durch den Messkanal zeigen, da dieser den mit Abstand kleinsten Abstand zwischen zwei Kanalwänden hat. Im Zuführungsschlauch liegt  $Re_K$  maximal bei  $9 \cdot 10^{-7}$  (Schlauchdurchmesser:  $200 \mu m$ , Flussrate:  $8 \mu l/min$ ) und ist damit um einige Größenordnungen geringer als im Messkanalhöhe mit  $Re_K = 14,9$ . Die Verteilung in b) zeigt nun, dass trotz der höheren Kanalreynoldszahl keine Inertialmigration stattgefunden hat, da im Bereich von  $0,9 < v/v_{max} < 1,0$  die Theoriekurve und die Verteilung übereinstimmen. D.h., nahe der Mittelebene des Kanals

sind die Partikel über die Höhe gleichverteilt. Unterhalb der normierten Geschwindigkeit von 0,9 ist aber eine starke Abweichung von der Theoriekurve zu sehen, die durch Wandmigration hervorgerufen wird. Es finden sich keine Partikel mit einer normierten Geschwindigkeit unterhalb 0,6. Diese Partikel sind in den Bereich  $0,6 < v/v_{max} < 0,9$  migriert, was in der Abbildung durch den Pfeil angedeutet wird. Das Maximum bei  $v/v_{max} = 0,7$  entsteht durch die asymptotischen Partikeltrajektorien der Wandmigration, wie sie in Abbildung 2.12 gezeigt sind, die zur Kompression des Geschwindigkeitsbereichs führen. Die Wandmigration ist aber noch nicht abgeschlossen. Die Situation von b) kann der normierten Länge  $\Delta l' < 0,1$ , der Theorie von Ho & Leal (siehe Abbildung 2.12) zugeordnet werden. Setzt man die experimentellen Werten  $Re_K = 14,9$ ,  $R_p = 0,42 \mu m$  und  $d = 11,9 \mu m$  in Gleichung (2.61) ein, so ergibt sich für  $\Delta l' = 0,1$  eine Laufstrecke von  $\Delta l = 1,82$ . Diese theoretische Lauflänge ist wesentlich kürzer als die von uns gemessene Laufstrecke von  $\Delta l = 47,5 mm$ . Das zeigt, dass die Theorie von B.P. Ho & L.G. Leal die Laufstrecke für diesen Fall unterschätzt.



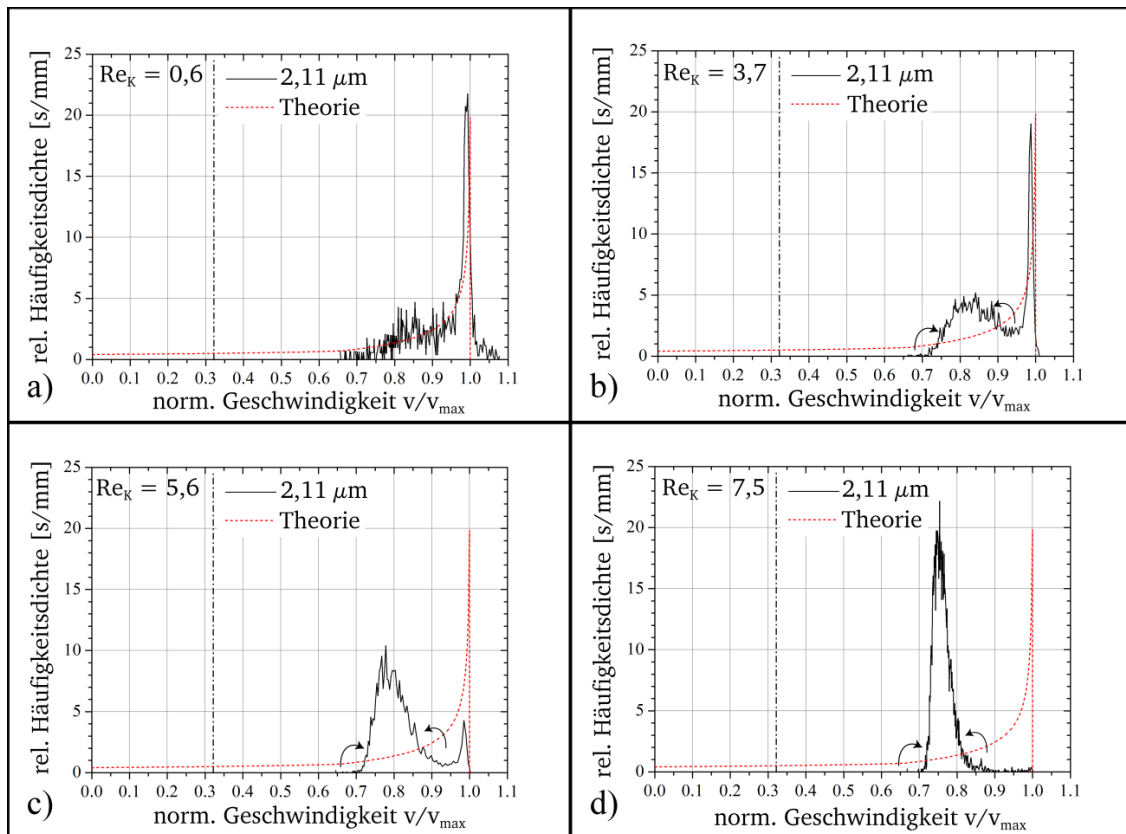
**Abbildung 4.3** a) Die Geschwindigkeitsverteilung von  $0,84 \mu m$  Partikeln bei  $Re_K = 0,6$  verglichen mit einer Theoriekurve (rot), berechnet für punktförmige Teilchen. b) Die Geschwindigkeitsverteilung aus Abbildung 4.1, wieder verglichen mit einer für punktförmige Teilchen berechneten Theoriekurve. Der Pfeil deutet an, dass die Partikel im Vergleich zur Theoriekurve durch Wandmigration in den Peak bei  $v/v_{max} = 0,7$  gewandert sind. Die senkrechte Strich-Punkt Linie gibt die Strömungsgeschwindigkeit des parabolischen Strömungsprofils durch den Schwerpunkt eines Partikels an, wenn dieses die Kanalwand berührt.

Abbildung 4.4 zeigt normierte Geschwindigkeitsverteilungen von  $2,11 \mu m$  Partikeln. Die Verteilung von a) bei einer Kanal Reynoldszahl  $Re_K = 0,6$  ist ähnlich zu der der  $0,84 \mu m$  Partikel aus Abbildung 4.3, a). Die Abweichung von der Theoriekurve ist marginal und dies bedeutet erneut, dass die Partikel größtenteils statistisch gleich über die Kanalhöhe  $d$  nach der Laufstrecke von  $\Delta l = 47,5 mm$  verteilt sind. Auch bei dieser Verteilung sind die „fehlenden“ Partikel zwischen dem theoretischen Wandkontakt und dem Beginn der gemessenen Verteilung, also im Bereich von  $0,32 < v/v_{max} < 0,65$ , dadurch zu erklären, dass immer ein Spalt zwischen Partikel und Wand existiert. Bei genauerer Betrachtung fällt auf, dass der Peak der gemessenen Verteilung bei der maximalen Geschwindigkeit höher und etwas verbreitert ist im Vergleich zur Theoriekurve. Dies deutet an, dass nur eine annähernde Gleichverteilung mit einer Verdichtung der Partikelhäufigkeit nahe der Mittelebene des Kanals vorliegt. Insbesondere zeigt diese Verteilung, dass keine Inertialmigration bei dieser Reynoldszahl vorliegt.

Die Verteilung von b) bei einem  $Re_K = 3,7$  zeigt klar die Wandmigration hin zum Geschwindigkeitsbereich  $0,7 < v/v_{max} < 0,9$ , was in der Abbildung durch den gebogenen Pfeil links angedeutet wird. Dadurch bildet sich erneut der „Migrationspeak“. Vergleicht man b) mit den Verteilungen von c) und d), so ist zu sehen, dass die Verteilungen immer bei  $v/v_{max} = 0,7$  beginnen. Daher ist anzunehmen, dass die Wandmigration bei  $Re_K = 3,7$  schon abgeschlos-



sen ist. Der Vergleich mit der Theorie von Ho und Leal ergibt, dass für diesen Fall eine normierte Laufstrecke von  $\Delta l' \leq 0,5$  gelten muss. Diese Interpretation wird unterstützt von der reduzierten rel. Häufigkeitsdichte der Verteilung im Bereich von  $0,9 < v/v_{max} < 0,97$  im Vergleich zur Theoriekurve. Für zunehmendem Abstand von der Kanalmittelebene werden die Partikel schneller zur Gleichgewichtsposition transportiert, woraus sich eine Verarmung ergibt, da die Geschwindigkeitsklassen schneller Partikel verlieren, als sie mit neuen aus der Mitte aufgefüllt werden. Die Partikel des Bereichs mit reduzierter rel. Häufigkeitsdichte finden sich im Migrationspeak wieder, was in der Abbildung durch den gerundeten Pfeil rechts angedeutet wird. Dies ist auch der Beweis für das Auftreten von Inertialmigration bei b). Rechnet man die normierte Laufstrecke nach Gleichung (2.61) um, so ergibt sich ein Wert von  $\Delta l = 2,31 \text{ mm}$ , was erneut zu niedrig ist im Vergleich zu dem experimentellen Wert.



**Abbildung 4.4** a) zeigt die Geschwindigkeitsverteilung von  $2,11 \mu\text{m}$  Partikeln bei  $Re_K = 0,6$ , b) bei  $Re_K = 3,7$ , c) bei  $Re_K = 5,6$  und d) bei  $Re_K = 7,5$ . Alle Verteilungen werden mit der Theoriekurve für punktförmige Teilchen verglichen. Die senkrechte Strich-Punkt Linie gibt die Strömungsgeschwindigkeit des parabolischen Strömungsprofils durch den Schwerpunkt des Partikels an, wenn dieses die Kanalwand berührt.

Die Verteilung c) bei einem  $Re_K = 5,6$  wird einer norm. Laufstrecke im Bereich von  $0,5 < \Delta l' < 1,0$  zugeordnet, da eine deutliche Reduktion der rel. Häufigkeit bei der maximalen Geschwindigkeit zu beobachten ist. Nach der Umrechnung ergibt sich eine Laufstrecke im Bereich von  $1,52 \text{ mm} < \Delta l < 3,04 \text{ mm}$ . Die Verteilung von d) bei einem  $Re_K = 7,5$  wird schließlich dem Bereich  $1,0 < \Delta l' < 1,5$  zugeordnet, da sich die meisten Partikel im Migrationspeak aufhalten und somit nahe ihrer Gleichgewichtslage. Die asymmetrische Form des Migrationspeaks deutet aber an, dass die Inertialmigration noch nicht abgeschlossen ist. Der theoretisch erwartete Laufstreckenbereich ist umgerechnet  $2,28 \text{ mm} < \Delta l < 3,42 \text{ mm}$ , was wieder zu kurz ist im Vergleich zum experimentellen Befund. Zusammenfassend ist zu sagen, dass die Theorie von Ho und Leal die Laufstrecke  $\Delta l$  systematisch um eine Größenordnung zu

---

kurz sowohl für  $0,84\ \mu\text{m}$  Partikel als auch für  $2,11\ \mu\text{m}$  Partikel angibt. Da die Theorie von Ho und Leal eine Näherung erster Ordnung ist, wird davon ausgegangen, dass sich diese Abweichung verringert, wenn zusätzlich höhere Ordnungen berechnet werden. Das Berechnen dieser höheren Ordnungen ist aber nicht trivial und bisher nicht verwirklicht.

Abbildung 4.5, a) zeigt die Entwicklung der norm. Geschwindigkeitsverteilung der  $0,84\ \mu\text{m}$  Partikel von der bereits in Abbildung 4.3, a) gezeigten Situation bei  $Re_K = 0,6$  hin zu der von Abbildung 4.3, b) bei  $Re_K = 14,9$ . Der asymptotische Verlauf der Laufstrecke  $\Delta l \sim Re_K^{-1}$  kann deutlich an den langsamsten, gemessenen Geschwindigkeiten gesehen werden. Abbildung 4.5, b) zeigt die Entwicklung des Migrationspeaks der  $2,11\ \mu\text{m}$  Partikel aus den Abbildung 4.4, a)-d) und erweitert diese bis zu einer Kanalreynoldszahl von 14,9. Man sieht deutlich, wie scharf der Migrationspeak bei dieser Reynoldszahl im Vergleich zu den niedrigeren ist. Die Abbildung 4.5 c)-d) zeigen die Verteilungen der c)  $3,30\ \mu\text{m}$ , d)  $4,24\ \mu\text{m}$ , e)  $5,51\ \mu\text{m}$  und f)  $6,42\ \mu\text{m}$  Partikel. Bei allen vier ist selbst bei den niedrigsten Reynoldszahlen<sup>b</sup> nur ein Migrationspeak klar zu sehen. Die bisherige Untersuchung zeigt, dass anhand der Messung der Geschwindigkeitsverteilungen von Partikeln die Dynamik der Wand- und Inertialmigration sehr genau studiert werden kann.

Bei dem Anpassen einer Gaußverteilung an den Migrationspeak der  $5,51\ \mu\text{m}$  Partikel bei einer Reynoldszahl von  $Re_K = 14,9$  (siehe Abbildung 4.5 e)) werden dessen Mittelwert und mittlere Abweichung (Standardabweichung) gewonnen. Da die  $5,51\ \mu\text{m}$  Partikel in jeder der vier Suspensionen enthalten waren und jeweils am Beginn und am Ende jeder Messreihe eine Messung bei einem  $Re_K = 14,9$  gemacht wurde, stehen acht Mittelwerte zur Verfügung, um die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Messungen zu untersuchen. Der durch die Anpassung gewonnene Mittelwert ist zwar einerseits die Schwerpunktsgeschwindigkeit  $v_s$ , er bekommt aber andererseits bei einer scharfen Verteilung zusätzlich auch die physikalische Bedeutung der Gleichgewichtsgeschwindigkeit, die zu der jeweiligen Gleichgewichtslage des Partikeldurchmessers gehört.

In Abbildung 4.6 sind diese acht gemessenen Gleichgewichtsgeschwindigkeiten zusammen mit der dazugehörigen, maximalen Geschwindigkeit  $v_{max}$  (linke y-Achse) gegen die jeweilige Tageszeit der Messung aufgetragen. Die Gleichgewichtsgeschwindigkeiten am Beginn der Messreihe sind schwarz, am Ende rot. Die hellgrau hinterlegten Bereiche zeigen zusammen mit ihrer Beschriftung oberhalb der x-Achse, welche Suspension verwendet wurde. Am Anfang jeder Messreihe wurde die Umgebungstemperatur am Aufbau notiert. Diese Messwerte werden durch die Dreiecke in Abbildung 4.6 wiedergegeben und die zugehörigen Werte können auf der rechten y-Achse abgelesen werden.

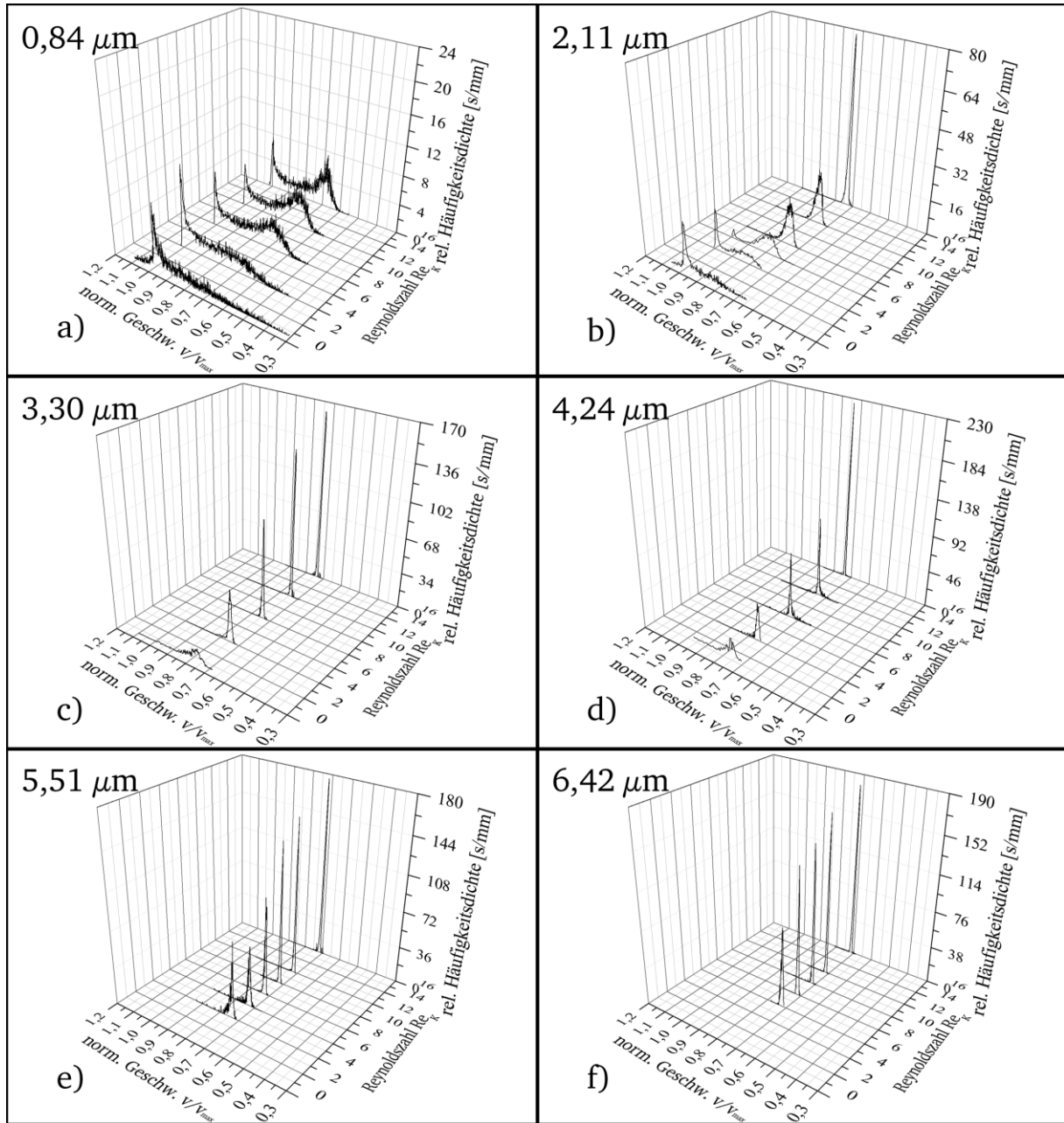
Es ist eindeutig zu sehen, dass die Variation der Gleichgewichtsgeschwindigkeit der  $5,51\ \mu\text{m}$  Partikel stärker ist als die der maximalen Geschwindigkeit. Sie läuft dieser teilweise sogar zuwider. Beispielhaft hierfür ist die Messreihe der  $2,11\ \mu\text{m}$  Suspension:

Die maximale Geschwindigkeit bei der Messung am Ende der Messreihe fällt niedriger aus als am Anfang, was durch Schwankungen der Reproduzierbarkeit der Flussrate der Spritzenpumpe (siehe Tabelle 4.2) verursacht wird. Die Gleichgewichtsgeschwindigkeit der  $5,51\ \mu\text{m}$  Partikel steigt allerdings deutlich. Erklärbar ist dieses Verhalten durch den Temperatureinfluss auf die Viskosität des Fluids. Die maximale Geschwindigkeit hängt ausschließlich von der Flussrate ab. Wird die Viskosität höher aufgrund kälterer Temperaturen, ist das Fluid dickflüssiger und es würde bei gleichem Druck eine geringere Menge des Fluids durch den Kanal

---

<sup>b</sup> Niedrigere Reynoldszahlen konnten aufgrund von Partikelsedimentation nicht vermessen werden.

strömen. Deshalb erhöht die Spritzenpumpe den Druck, um die Flussrate konstant zu halten und somit die maximale Geschwindigkeit. Allerdings setzt ein dickflüssigeres Medium der Inertial- und der Wandmigration einen höheren Widerstand entgegen, so dass der Migrationspeak breiter ist, was sich in der größeren mittleren Abweichung der Gleichgewichtsgeschwindigkeit der  $5,51\ \mu\text{m}$  Partikel in der Messung um 11:00 Uhr niederschlägt. Dies steht im Widerspruch zur steigenden Umgebungstemperatur.

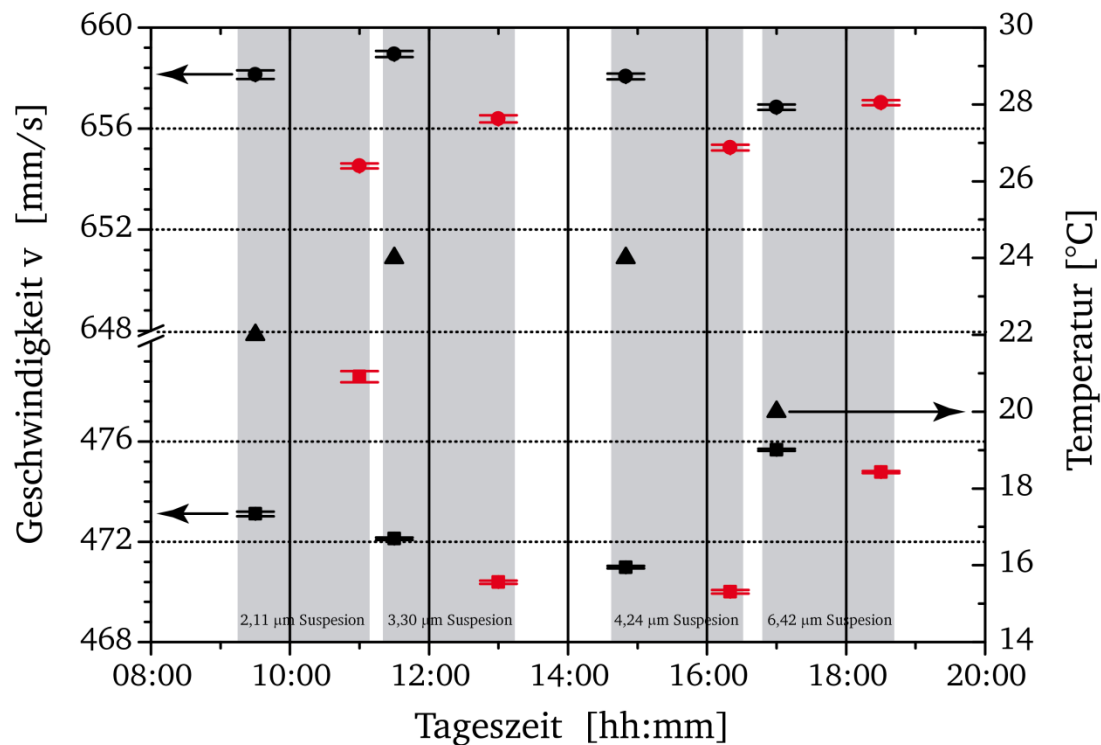


**Abbildung 4.5** Die normierten Geschwindigkeitsverteilungen von den Partikeln mit a)  $0,84\ \mu\text{m}$ , b)  $2,11\ \mu\text{m}$ , c)  $3,30\ \mu\text{m}$ , d)  $4,24\ \mu\text{m}$ , e)  $5,51\ \mu\text{m}$  und f)  $6,42\ \mu\text{m}$  mittleren Durchmessern, bei verschiedenen Kanalreynoldszahlen. Zur besseren Übersichtlichkeit sind nicht die Kurven jeder Messung der Strömungsbedingungen von Tabelle 4.2 gezeigt.

Ein experimenteller Fehler erklärt aber diesen Umstand: Die Probensuspensionen werden im Kühlschrank gelagert und wurde um 8:30 Uhr aus diesem genommen und die  $2,11\ \mu\text{m}$  Suspension wurde in die Probenspritze umgefüllt und nur in den Probenzuführungsschlauch gepumpt. Danach wurde das Setup ohne Fluidströmungen vorbereitet. In dieser Zeit erwärmte

sich die Suspension im Schlauch auf Umgebungstemperatur (wenig Masse, große Oberfläche), während die Suspension in der Spritze relativ kalt blieb. Während des Messbetriebs wurde nun am Anfang relativ warme Suspension durch den Messkanal gefördert, während am Ende die kältere Probensuspension in den Messkanal gefördert wurde. Der Messpunkt der  $5,51\ \mu\text{m}$  Partikel um 11:00 Uhr zeigt auch einen weiteren, interessanten Aspekt:

Die Viskosität des Fluids hat einen Einfluss auf die Gleichgewichtsgeschwindigkeit. Diese ist höher bei niedrigerer Temperatur. Im Tagesverlauf schwankt die Temperatur zwischen  $20^\circ\text{C}$  und  $24^\circ\text{C}$  (siehe Abbildung 4.6). Die Viskosität unterscheidet sich an diesen Grenzen um einen Faktor von  $1,1^\circ$ . Somit wird wahrscheinlich auch ein Viskositätseffekt auf die Gleichgewichtslage vorliegen, den die Theorie von Ho und Leal nicht vorhersagt.



**Abbildung 4.6** Der Graph zeigt die Schwerpunktgeschwindigkeiten  $v_s$  der  $5,51\ \mu\text{m}$  Population (■), sowie die gemessenen Maximalgeschwindigkeiten (•) des Strömungsprofils, für die Messungen bei  $Re_K = 14,9$ , sowohl am Anfang (schwarz) als auch am Ende (rot) jeder Messreihe einer Suspension aufgetragen gegen den Tageszeitpunkt der Messung. Der Zeitbereich der Durchführung einer Messreihe ist grau hinterlegt. Die Raumtemperatur(▲) ist jeweils zu Beginn jeder Messreihe abgelesen worden.

Während der Durchführung der Messreihe erwärmten sich alle anderen Suspensionen auf die Umgebungstemperatur, die über den Zeitraum der Messreihe der  $3,30\ \mu\text{m}$  Suspension und der  $4,24\ \mu\text{m}$  Suspension konstant blieb, so dass die Variationen der Gleichgewichtsgeschwindigkeit der Variation der maximalen Geschwindigkeit folgt. Das Abkühlen der Umgebungstemperatur zum Beginn der  $6,42\ \mu\text{m}$  Messung führt zu einer deutlich höheren Gleichgewichtsgeschwindigkeit trotz vergleichbarer maximaler Geschwindigkeit zu den vorherigen Messreihen. Während der Messung der Suspension muss sich die Probe allerdings leicht erwärmt haben, so dass die Gleichgewichtsgeschwindigkeit der Messung am Ende der  $6,42\ \mu\text{m}$  Messreihe trotz gleichbleibender maximaler Geschwindigkeit reduziert ist. Diese Ergebnisse zeigen, dass für zukünftige Messreihen zumindest eine Dokumentation der Probentemperatur

<sup>c</sup> nach der Industriellen Formel von 1997 der „International Association for the Properties of Water and Steam (IAPWS)“

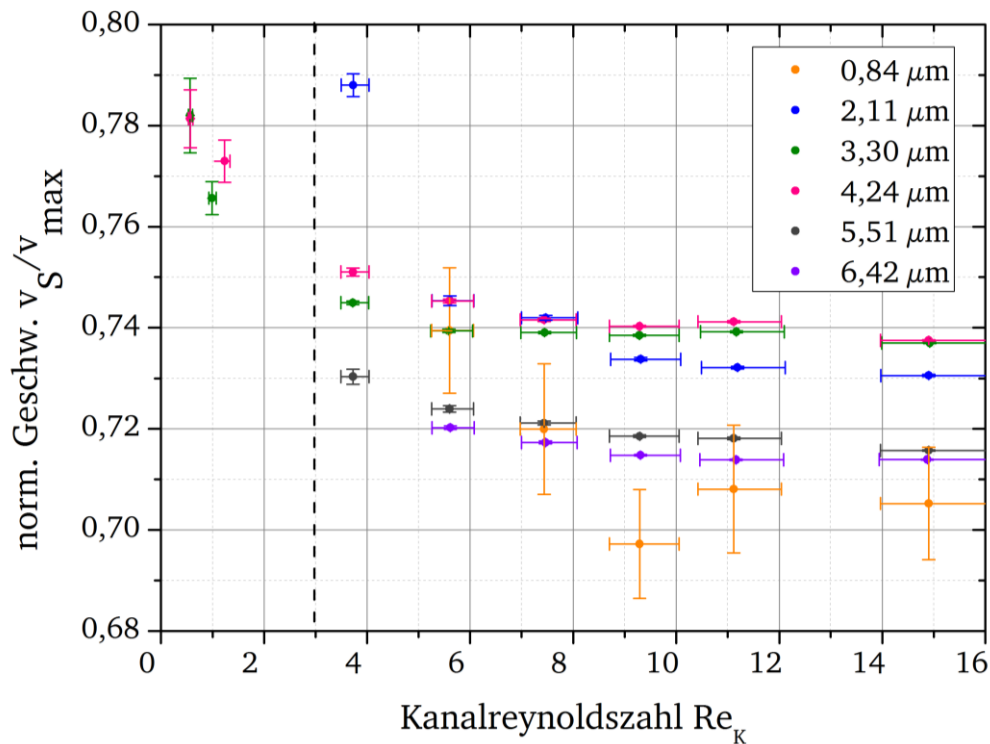
---

benötigt wird, mittelfristig wäre eine Temperaturkontrolle aber deutlich besser. Dies konnte für diese Arbeit nicht mehr realisiert werden.

Um den Fehler durch den Temperatureinfluss zu minimieren, werden die Gleichgewichtsgeschwindigkeiten der  $5,51\ \mu\text{m}$  Partikel aus der Messreihe der  $4,24\ \mu\text{m}$  Suspension als Referenz gewählt, da diese keinen Temperatureinfluss aufweist und die Schwankungen der maximalen Geschwindigkeit geringer sind als bei der Messreihe der  $3,30\ \mu\text{m}$  Suspension. Die Differenz zwischen der Referenz und der jeweiligen  $5,51\ \mu\text{m}$  Gleichgewichtsgeschwindigkeit jeder einzelnen Messung bei gleicher Reynoldszahl wird gebildet und von der Gleichgewichtsgeschwindigkeit jeder enthaltenen Partikelsorte subtrahiert. Erst anschließend wird wieder auf die maximale Geschwindigkeit normiert. Die so gewonnenen, temperaturkorrigierten und normierten Gleichgewichtsgeschwindigkeiten sind in Abbildung 4.7 gegen die Kanalreynoldszahl aufgetragen. Unterhalb der senkrechten, gestrichelten Linie ist aufgrund der fehlenden  $5,51\ \mu\text{m}$  Gleichgewichtsgeschwindigkeit keine Korrektur des Temperatureinflusses vorgenommen worden. Aufgrund der Temperaturungenauigkeiten wird ein Temperaturbereich von  $19,5^\circ\text{C} < T < 24,5^\circ\text{C}$  angenommen, mit einem Mittelwert von  $22,5^\circ\text{C}$ . Für diesen Mittelwert werden die Viskosität und Dichte und mit diesen die Kanalreynoldszahl berechnet, der Fehler der Kanalreynoldszahl ergibt sich aus dem Temperaturbereich und den damit einhergehenden Veränderung der Viskosität.

Deutlich zu sehen ist ein asymptotischer Verlauf der Gleichgewichtsgeschwindigkeiten jeder Partikelsorte. Dieser ist durch noch nicht vollständig abgeschlossene Inertialmigration zu erklären, bei der der Migrationspeak asymmetrisch verzerrt bleibt und infolge dessen der Mittelwert hin zu höheren Geschwindigkeiten verschoben ist. Dies wird besonders klar beim Betrachten der normierten Standardabweichung der Messwerte, die in Abbildung 4.8 gegen die Kanalreynoldszahl aufgetragen ist. Auch hier ist ein asymptotischer Verlauf deutlich zu erkennen. Alle Standardabweichungen münden in einen annähernd einheitlichen Verlauf oberhalb einer Kanalreynoldszahl von  $Re_K = 9,0$ . Für  $Re_K > 6,0$  geht der bis dahin einem exponentiellen Verlauf ähnelnde Trend der Standardabweichung und der Gleichgewichtsgeschwindigkeit der  $3,30\ \mu\text{m}$ ,  $4,24\ \mu\text{m}$ ,  $5,51\ \mu\text{m}$  und  $6,42\ \mu\text{m}$  Partikel über in einen linearen Trend, für die  $2,11\ \mu\text{m}$  Partikel erst ab einem  $Re_K > 9,0$ . Für die Standardabweichung der  $2,11\ \mu\text{m}$  Partikel ist allerdings kein linearer Trend erkennbar (siehe Abbildung 4.8), so dass deren Migration selbst bei einem  $Re_K = 14,9$  als noch nicht abgeschlossen betrachtet werden muß. Der lineare Trend hin zu langsameren Geschwindigkeiten lässt sich als leichte Abhängigkeit der Gleichgewichtsposition und damit auch der Gleichgewichtsgeschwindigkeit von der Kanalreynoldszahl identifizieren, wie bereits von J.A. Schonberg und E.J. Hinch (siehe Abbildung 2.14) gezeigt. Mit deutlich steigender Kanalreynoldszahl verschiebt sich die Gleichgewichtslage der Partikel hin zur Wand, also auch zu niedrigeren Geschwindigkeiten.

Nach dem Übergang des exponentiellen Verlaufs in den linearen Verlauf kann also von einer vollständig abgeschlossenen Wand- und Inertialmigration gesprochen werden. Für  $3,30\ \mu\text{m}$ ,  $4,24\ \mu\text{m}$ ,  $5,51\ \mu\text{m}$  und  $6,42\ \mu\text{m}$  Partikel ist dies ab einer Kanalreynoldszahl von  $Re_K = 6,0$  zu erkennen. Man kann also anhand der Messung der Gleichgewichtsgeschwindigkeit sehr genau die Kanalreynoldszahl bestimmen, ab der die Inertialmigration abgeschlossen ist und auch die dazugehörige Laufstrecke  $\Delta l$ .

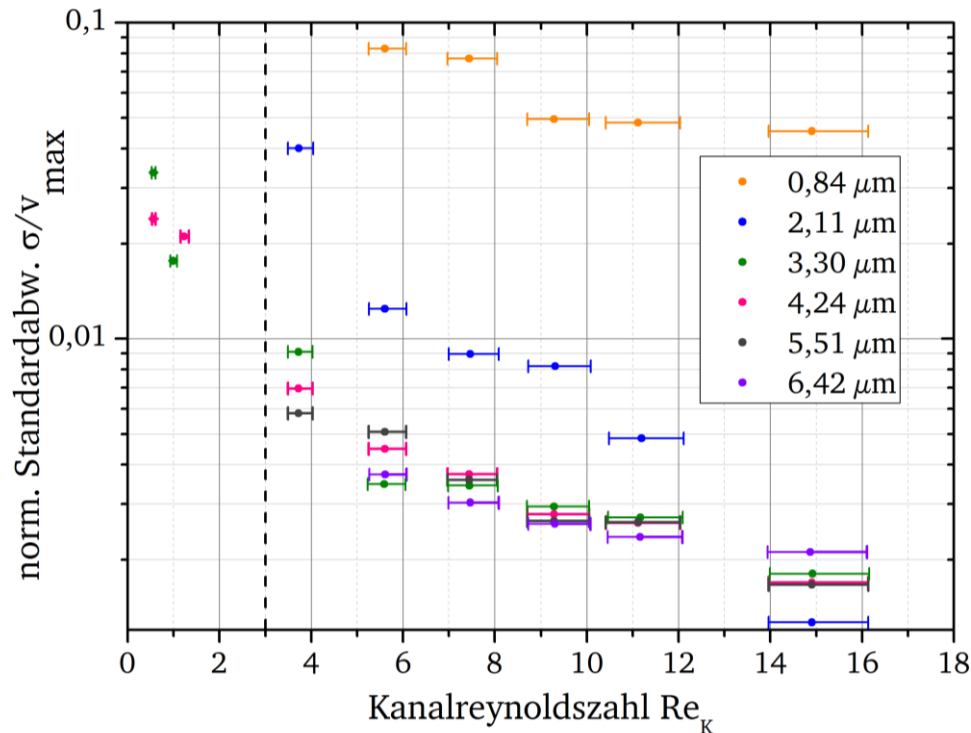


**Abbildung 4.7** Die normierte und korrigierte Geschwindigkeit jeder Population ist aufgetragen gegen die Kanalreynoldszahl  $Re_K$ . Aufgrund der angenommenen Temperaturschwankungen schwankt die Viskosität, was zum angegebenen Messfehler der Kanalreynoldszahlen führt. Der Fehler der norm. Geschwindigkeit wird aus der mittleren Abweichung der Schwerpunkts- geschwindigkeit  $v_s$  und der maximalen Geschwindigkeit  $v_{max}$  berechnet. Die Messwerte bei Kanalreynoldszahlen, die niedriger sind als die gestrichelte Linie, sind nicht korrigiert, da hierfür keine 5,51  $\mu m$  Population verfügbar ist.

Zusätzlich ist in den Daten eine deutliche Abhängigkeit der Gleichgewichtsgeschwindigkeit vom Partikeldurchmesser zu erkennen, da jeder Verlauf einzigartig für die Partikelgröße ist. So ist die Gleichgewichtsgeschwindigkeit im Bereich  $Re_K > 9,0$  der 2,11  $\mu m$  Partikel langsamer als die der 3,30  $\mu m$  und 4,24  $\mu m$  Partikel. Deren Gleichgewichtsgeschwindigkeit ist in diesem Bereich sehr ähnlich, besonders bei einer Kanalreynoldszahl von 14,9 ist sie annähernd gleich. Bemerkenswert ist, dass für diese beiden Partikel auch die schnellsten Gleichgewichtsgeschwindigkeiten gefunden werden. Alle Messungen mit den 5,51  $\mu m$  und den 6,42  $\mu m$  Partikel zeigen geringere Gleichgewichtsgeschwindigkeiten. In Kapitel 2.4.1 wurde erwähnt, dass D. Di Carlo *et al.* im Jahr 2009 keine Abhängigkeit der Gleichgewichtsgeschwindigkeit vom Partikeldurchmesser  $D_p$  feststellen konnten. Dies liegt an der zu geringen Auflösung der verwendeten Messmethodik, die auf der Analyse von Partikelfotografien beruhte. Die Abhängigkeit der Gleichgewichtsgeschwindigkeit von der Partikelgröße wird in Kapitel 4.2 eingehend diskutiert.

Die Migration der 0,84  $\mu m$  Partikel ist bei diesen Kanalreynoldszahlen noch nicht abgeschlossen, was die wesentlich größeren Werte der Standardabweichung (linke y-Achse) im Vergleich zu den Standardabweichungen der anderen Partikelgrößen zeigt, wie bereits bei der Diskussion der Geschwindigkeitsverteilungen deutlich gemacht wurde. Trotzdem könnte man ein Abzeichnen des Übergangs der Gleichgewichtsgeschwindigkeit zum linearen Trend ab einem  $Re_K = 10,0$  vermuten. In Anbetracht des Fehlers der Messwerte und auch des Ausreißers bei  $Re_K = 9,3$  sollte der Trend bestehend aus zwei Messpunkten aber nicht überbewertet werden. Es müssen zukünftig weitere Messungen, nicht nur für die 0,84  $\mu m$  Partikel, sondern

auch für alle anderen Partikelsorten bei entsprechend höheren Kanalreynoldszahlen durchgeführt werden.



**Abbildung 4.8** Die normierte und korrigierte Standardabweichung jeder Population aufgetragen gegen die Kanalreynoldszahl  $Re_K$ . Aufgrund der angenommenen Temperaturschwankungen schwankt die Viskosität, was zum angegebenen Messfehler der Kanalreynoldszahlen führt. Die Messwerte bei Kanalreynoldszahlen, die niedriger sind als die gestrichelte Linie, sind nicht korrigiert, da hierfür keine 5,51  $\mu m$  Population verfügbar ist.

## 4.2. Partikelgrößenmessung durch Gleichgewichtsgeschwindigkeitsmessung

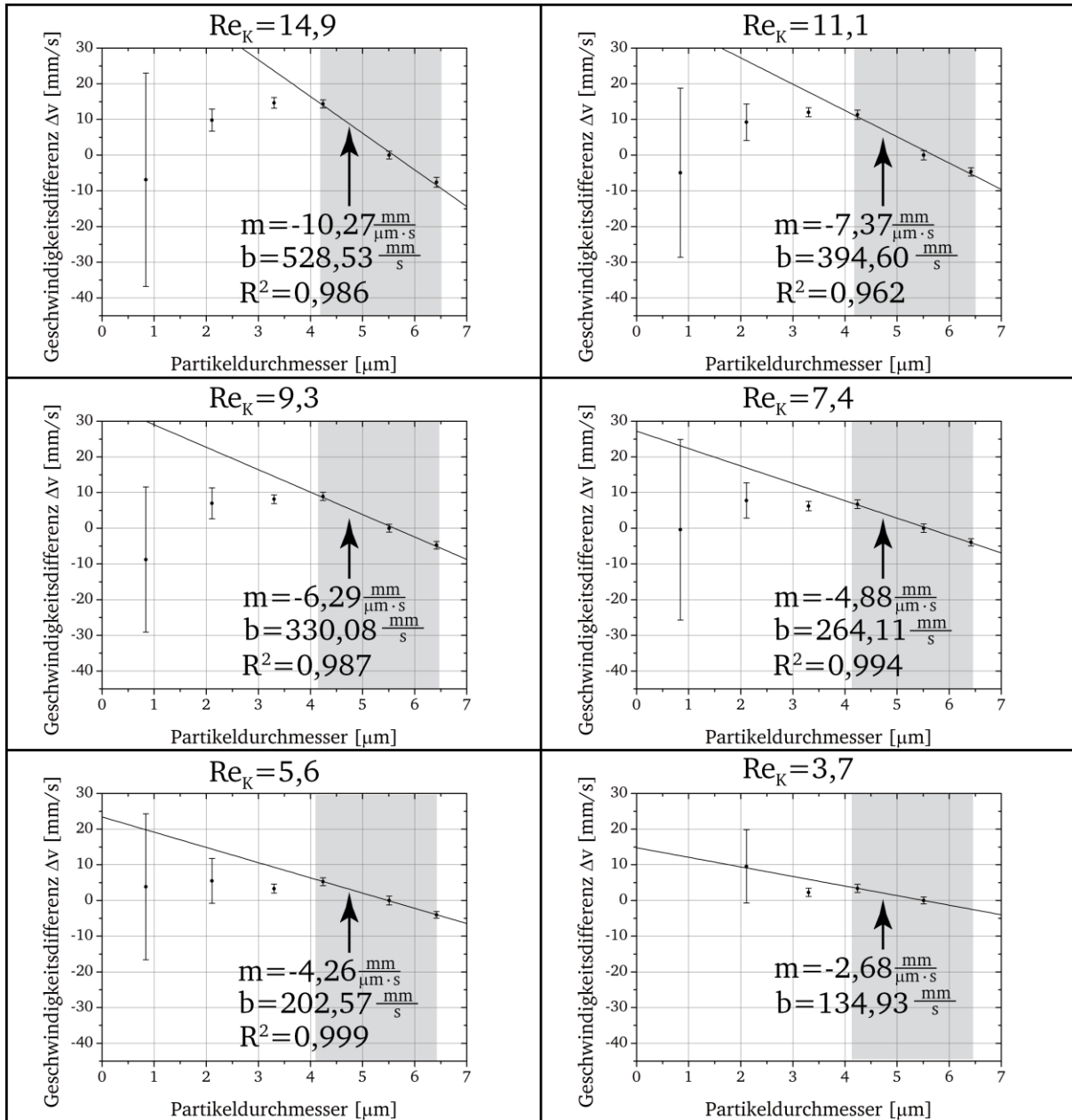
Ob es möglich ist, über die Gleichgewichtsgeschwindigkeit von Partikeln deren Durchmesser zu bestimmen, hängt davon ab, wie deutlich sich die Migrationspeaks auf der Geschwindigkeitsachse voneinander unterscheiden lassen. Um dies zu untersuchen, werden die temperaturkorrigierten Messergebnisse aus Abbildung 4.7 von Kanalreynoldszahlen größer als 3,0 (senkrechte, gestrichelte Linie) verwendet. Tabelle 4.3 enthält die nicht normierten Gleichgewichtsgeschwindigkeiten  $v_s$  zu jeder gemessenen Kanalreynoldszahl und die jeweilige Standardabweichung  $\sigma$  des Migrationspeaks. Die Differenz zwischen der Gleichgewichtsgeschwindigkeit einer Partikelsorte und der Gleichgewichtsgeschwindigkeit der 5,51  $\mu m$  Partikel (Referenz) bei gleicher Kanalreynoldszahl für jede Partikelsorte wird gebildet. Diese Geschwindigkeitsdifferenzen  $\Delta v$  sind in Abbildung 4.9 gegen den jeweiligen Partikeldurchmesser für die sechs Kanalreynoldszahlen aufgetragen. Der Fehlerbalken an den Messwerten zeigt die Standardabweichung und hilft, die Trennbarkeit von Migrationspeaks auf der Geschwindigkeitsachse einzuschätzen.

**Tabelle 4.3** Die temperaturkorrigierten Gleichgewichtsgeschwindigkeiten zusammen mit den Standardabweichungen der jeweiligen Migrationspeaks aller Partikelsorten für Kanalreynoldszahlen größer als 3, 0.

			Kanalreynoldszahl					
			14,9	11,1	9,3	7,4	5,6	3,7
6,42 $\mu\text{m}$	$v_S$	mm/s	463,39	347,96	290,06	232,96	175,15	
	$\sigma$	mm/s	1,39	1,16	1,07	1,00	0,92	
5,51 $\mu\text{m}$	$v_S$	mm/s	470,99	352,61	294,79	236,89	179,16	120,25
	$\sigma$	mm/s	1,10	1,29	1,09	1,17	1,26	0,96
4,24 $\mu\text{m}$	$v_S$	mm/s	485,34	363,94	303,71	243,60	184,45	123,65
	$\sigma$	mm/s	1,11	1,29	1,14	1,23	1,11	1,15
3,30 $\mu\text{m}$	$v_S$	mm/s	485,63	364,63	302,92	243,10	182,48	122,52
	$\sigma$	mm/s	1,51	1,24	1,23	1,28	1,25	1,18
2,11 $\mu\text{m}$	$v_S$	mm/s	480,80	361,85	301,80	244,67	184,65	129,80
	$\sigma$	mm/s	3,09	5,09	4,33	4,94	6,27	10,26
0,84 $\mu\text{m}$	$v_S$	mm/s	464,09	347,67	286,04	236,49	183,01	
	$\sigma$	mm/s	29,88	23,69	20,34	25,30	20,46	

Bei einer Kanalreynoldszahl von  $Re_K = 14,9$  ist zu sehen, dass sich die 0,84  $\mu\text{m}$  Partikel nicht von den 2,11  $\mu\text{m}$  Partikeln, den 3,30  $\mu\text{m}$  Partikeln und den 4,24  $\mu\text{m}$  Partikeln unterscheiden lassen, da entweder die Standardabweichungen zu groß sind, oder aber die Gleichgewichtsgeschwindigkeiten zu eng beieinander liegen, so dass auch bei geringer Standardabweichung keine Unterscheidung möglich ist. Im Partikelgrößenbereich  $4,24 \mu\text{m} \leq D_p \leq 6,42 \mu\text{m}$  sind die Migrationspeaks aber sehr gut unterscheidbar, und es zeichnet sich darüber hinaus ein in erster Näherung linearer Zusammenhang zwischen Durchmesser und Gleichgewichtsgeschwindigkeit ab, wie mittels eines linearen Fits (durchgezogene Linie) belegt wird. Die Steigung des linearen Fits und der  $R^2$ -Wert sind in den jeweiligen Graph eingezeichnet. Der hellgrau hinterlegte Bereich kennzeichnet den jeweils für den Fit verwendeten Datenbereich. Je geringer die Kanalreynoldszahl wird, desto flacher wird die Steigung der Fitgeraden und somit sinkt die Auflösung der Messung einer Partikelgröße. Dieser Trend legt die Vermutung nahe, dass bei höheren Reynoldszahlen ( $Re_K > 14,9$ ) eine weitere Verbesserung der Auflösung zu erreichen ist. Im Messbereich von  $4,24 \mu\text{m} \leq D_p \leq 6,42 \mu\text{m}$  sind zumindest bei den hier gemessenen Kanalreynoldszahlen keine nachteiligen Effekte zunehmender Reynoldszahlen festzustellen. Der Messbereich selbst kann durch eine Variation des Verhältnisses von Partikeldurchmesser zu Kanalhöhe eingestellt werden. Eine genaue Aufklärung des Zusammenhangs konnte in dieser Arbeit nicht mehr erfolgen. Zukünftige Messungen müssen zeigen, wo der optimale Arbeitspunkt für die Partikelgrößenmessung mit dieser Messtechnik liegt. Bei einer Kanalreynoldszahl von 3,7 sind die 6,42  $\mu\text{m}$  Partikel bereits sedimentiert und bei den 0,84  $\mu\text{m}$  Partikel ist kein Migrationspeak erkennbar. Dieser Graph wird nur der Vollständigkeit halber gezeigt.





**Abbildung 4.9** Jeder Graph zeigt die Geschwindigkeitsdifferenz  $\Delta v$  zwischen der Schwerpunkts-geschwindigkeit  $v_s$  jeder Population und der Schwerpunkts-geschwindigkeit  $v_s$  der  $5,51 \mu\text{m}$  Population ( $4,24 \mu\text{m}$  Suspension) bei der angegebenen Kanalreynoldszahl  $Re_K$ . Eine lineare Trendlinie ist im Bereich der grau hinterlegten Daten angepasst. Deutlich zu sehen ist das Abflachen der linearen Trendlinie mit geringer werdender Kanalreynoldszahl  $Re_K$ , das gleichbedeutend mit geringer werdender Trennschärfe ist.

Für die Kanalreynoldszahl von 14,9 errechnet sich die Kalibrationsgerade für den Partikelgrößenmessbereich von  $4,24 \mu\text{m} \leq D_p \leq 6,42 \mu\text{m}$  folgendermaßen

$$v_p = m \cdot D_p + b \quad (4.1)$$

$$m = -10,27 \frac{\text{mm}}{\mu\text{m} \cdot \text{s}} \quad (4.2)$$

$$b = 528,53 \frac{\text{mm}}{\text{s}} \quad (4.3)$$

Die Parameter  $m$  und  $b$  haben ausschließlich numerische Bedeutung. Im Folgenden wird gezeigt, dass die Empfindlichkeit der Partikelgrößenmessung erlaubt, die Partikelgrößenverteilung innerhalb einer Population zu ermitteln.

Abbildung 4.10 zeigt den Scatterplot der  $5,51\ \mu\text{m}$  Population aus der  $4,24\ \mu\text{m}$  Messreihe bei einer Kanalreynoldszahl von  $Re_K = 14,9$ . Die hellgrauen Kreuze sind die Intensitätsschwerpunkte  $I_{S,v}$  des jeweiligen Geschwindigkeitskanals und die Fehlerbalken geben erneut die zugehörige Standardabweichung an. Die Schwerpunkte wurden nur für Geschwindigkeitskanäle berechnet, in denen sich mehr als 8 Partikel finden.

Die Schwerpunkte sind eindeutig abhängig von der Partikelgeschwindigkeit. Mit zunehmender Geschwindigkeit nimmt  $I_{S,v}$  stetig ab. Die Streubreite der Intensitätsmesswerte um  $I_{S,v}$  ist entweder dominiert durch die Farbstoffmenge bzw. die lokale Anregungslichtintensität oder durch Fehler der Geschwindigkeitsmessung. Es ist nicht geklärt, welcher der beiden Effekte dominiert, da keine Herstellerangabe zum Fluoreszenzfarbstoffgehalt der Partikel und deren Schwankungen vorliegt. Aufgrund der Abnahme der Intensität mit zunehmender Geschwindigkeit und somit abnehmendem Partikeldurchmesser wird ein Zusammenhang zwischen Volumen und Fluoreszenzfarbstoffgehalt vermutet. Um dies zu überprüfen, wird an den Verlauf der Schwerpunkte  $I_{S,v}$  in den einzelnen Geschwindigkeitskanälen die folgende Funktion angepasst:

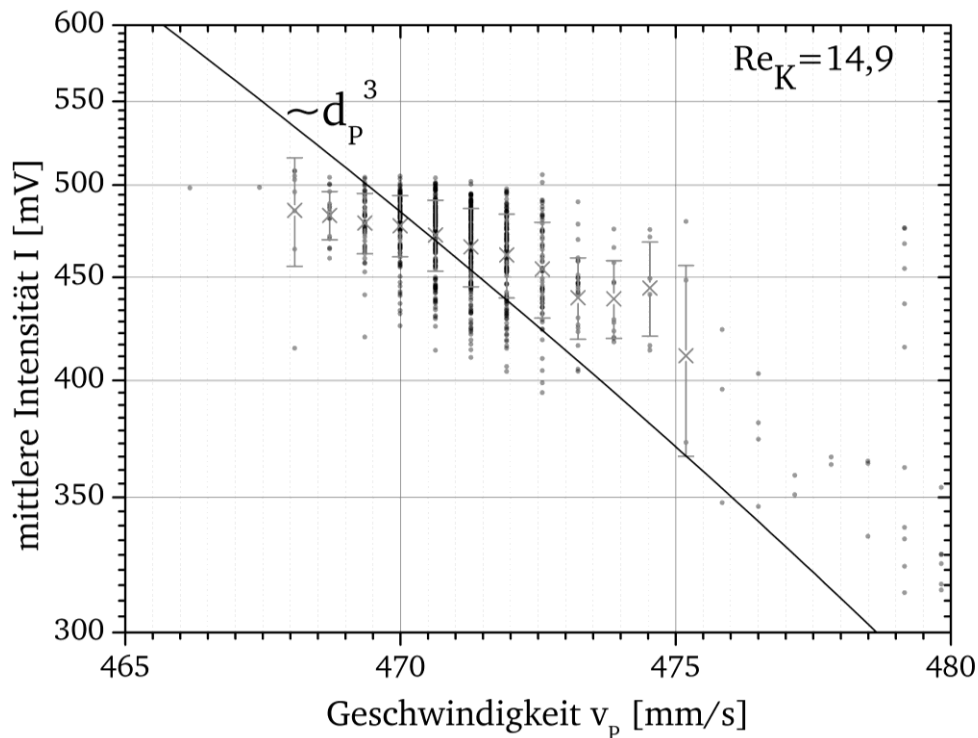
$$I_{S,v} = A \left( \frac{v_p - b}{m} \right)^3 \quad (4.4)$$

$$A = 2,62 \frac{\text{mV}}{\mu\text{m}^3} \quad (4.5)$$

Es wird angenommen, dass der Fluoreszenzfarbstoff durch den Herstellungsprozess der Partikel direkt proportional zum Partikelvolumen und damit proportional zur dritten Potenz des Durchmessers ist. Für den Durchmesser wurde die Kalibrationsgerade (4.1) eingesetzt. Der Vergleich des Verlaufs der Schwerpunkte  $I_{S,v}$  und der schwarzen, durchgezogenen Linie, die die Gleichung (4.4) wiedergibt, zeigt, dass die Fluoreszenz des Partikels mit weniger als der dritten Potenz des Durchmessers zunimmt. Dies ist aber durchaus realistisch, da Gleichung (4.4) nicht die Tiefenabhängigkeit der Anregungsintensität durch Absorption im Polystyren des Partikels und Verluste des Fluoreszenzlichts durch interne Re-Absorption berücksichtigt.

Die Schwerpunktsgeschwindigkeit  $v_s$  der Population beträgt  $470,99\ \text{mm/s}$  mit einer Standardabweichung von  $1,10\ \text{mm/s}$  (siehe Tabelle 4.3). Rechnet man mit der Kalibrationsgerade (4.1) die  $470,99\ \text{mm/s}$  in den Partikeldurchmesser um, so ergibt sich die Partikelgröße  $5,60\ \mu\text{m}$  für die Schwerpunktsgeschwindigkeit. Diese ermittelte, mittlere Partikelgröße von  $5,60\ \mu\text{m}$  weicht von den Angaben des Herstellers von  $5,51\ \mu\text{m}$  leicht um  $0,09\ \mu\text{m}$  ( $\sim 1,6\ \%$ ) ab. Diese Abweichung liegt innerhalb der Standardabweichung (Herstellerangabe:  $0,12\ \mu\text{m}$ ) und ist auf die lineare Näherung des Zusammenhangs zwischen Durchmesser und Partikelgeschwindigkeit zurückzuführen. Im Abstand zur Schwerpunktsgeschwindigkeit von einer Standardabweichung haben Partikel eine Geschwindigkeit von  $472,09\ \text{mm/s}$ . Diese Geschwindigkeit umgerechnet in den Durchmesser ergibt  $5,71\ \mu\text{m}$ . Die über die Kalibrationsgerade (4.1) berechnete Standardabweichung des Partikeldurchmessers beträgt demnach  $0,11\ \mu\text{m}$ . Nach Herstellerangaben beträgt sie  $0,12\ \mu\text{m}$ ; auch diese Angabe lässt sich überraschend genau anhand der Kalibrationsgerade (4.1) reproduzieren. Innerhalb einer Standardabweichung liegen zwei Geschwindigkeitskanäle, wie dem Scatterplot entnommen werden kann. Das bedeutet, dass die minimale Partikelgrößenauflösung der hier gezeigten Messmethodik bei einer Abtast-

rate von 250  $kS/s$  bei 55  $nm$  liegt. Einer signifikanten Erhöhung der Abtastrate steht nichts im Wege, so dass die Geschwindigkeitsauflösung noch wesentlich verbessert werden kann.



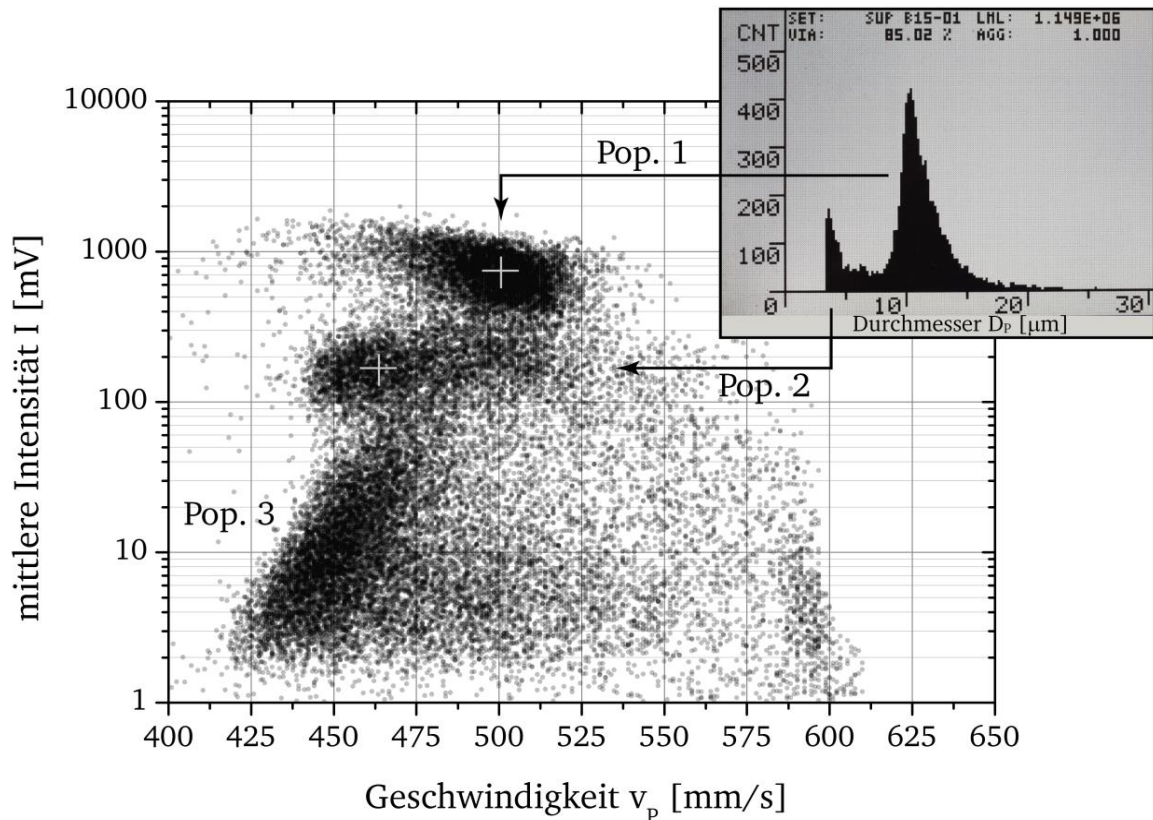
**Abbildung 4.10** Der Graph zeigt den Scatterplot der 5,51  $\mu m$  Population aus der Messung bei  $Re_K = 14,9$ , der 4,24  $\mu m$  Messreihe. In jeder Geschwindigkeitsklasse wurde der Schwerpunkt der mittleren Intensitäten  $I$  berechnet ( $\times$ ). Die Fehlerbalken zeigen die zugehörige Standardabweichung. Die Fitfunktion Gl. (4.4) wurde an die Intensitätsschwerpunkte angepasst und der Gütefaktor der Anpassung ergibt sich zu  $R^2 = 0,919$ .

### 4.3. Zellgrößenmessung durch Gleichgewichtsgeschwindigkeitsmessung

Es wurde gezeigt, dass die Größenmessung von Partikeln möglich ist. Letztlich ist die RMF-Technik aber für eine Zellzählung und Größenmessung vorgesehen. Um die Eignung des hier beschriebenen Verfahrens für die Zellzählung zu untersuchen, wurden menschliche Knochenmarkszellen aus einer Zelllinie (SUP-B15) in einer phosphatgepufferten Salzlösung (kurz PBS) suspendiert, mit Carboxyfluorescein Succinimidyl Ester (CFSE) fluoreszierend angefärbt und diese sowohl im kommerziell erhältlichen CASY TT Zytometer vermessen als auch im experimentellen Aufbau. Der verwendete Chip war der bereits in den oben beschriebenen Messungen verwendete Chip SOI-70. Die Flussrate des Hüllflüssigkeitsstroms betrug  $Q_H = 1,599985 \mu l/s$ , die der Probensuspension  $Q_P = 0,133343 \mu l/s$ , womit sich Probenstrombreite von  $w_F \approx 20 \mu m$  und eine Flussrate von 200  $\mu l/min$  im Messkanal ergeben ( $Re_K = 14,9$ ). Die Abtastfrequenz betrug  $f_A = 333 kS/s$ .

Das Ergebnis dieser beiden Messungen ist in Abbildung 4.11 gezeigt, wobei das Histogramm in der rechten, oberen Ecke das Messergebnis des CASY Modell TT Zytometers zeigt und der Scatterplot das Messergebnis des experimentellen Aufbaus. Im Größenhistogramm fallen zwei Populationen auf. Die größere hat das Zählmaximum bei einem Zelldurchmesser von ungefähr 11  $\mu m$ , die zweite Population bei ungefähr 3,5  $\mu m$ . Das Detektionslimit des CASY Zytometers liegt bei 3,0  $\mu m$ . Beide Populationen finden sich im Scatterplot wieder und ihre jeweiligen Intensitäts- und Geschwindigkeitsschwerpunkte sind mit einem hellgrauen Kreuz markiert.

Diese Messung belegt deutlich, dass die mittlere Größe beider Populationen durch die Messung der Schwerpunktsgeschwindigkeit eindeutig messbar ist, da beide weit auseinanderfallen. Zu den elastisch verformbaren Zellen der mittleren Größe  $11\ \mu\text{m}$  gehört eine Schwerpunktsgeschwindigkeit von  $501,4\ \text{mm/s}$ , zu den  $3,5\ \mu\text{m}$  großen, ebenfalls elastisch verformbaren Zellen gehört  $463,6\ \text{mm/s}$ .



**Abbildung 4.11** Die Abbildung zeigt den Scatterplot der Messung einer Zellsuspension aus SUP-B15 Zellen. Drei Populationen sind deutlich zu erkennen. Der Graph in der rechten, oberen Ecke ist das Ergebnis einer Messung der gleichen Suspension mit einem CASY TT Zytometer. Die Populationen 1 und 2 werden auch im Zytometer erkannt, Population 3 liegt unterhalb des Detektionslimits der Partikelgröße des Casy TT Zytometers.

Aus Tabelle 4.3 kann die Gleichgewichtsgeschwindigkeit für die starren, sphärischen  $4,24\ \mu\text{m}$  Partikel und für die  $3,30\ \mu\text{m}$  Partikel abgelesen werden und es finden sich kaum unterscheidbare Werte von  $485,34\ \text{mm/s}$ , bzw.  $485,63\ \text{mm/s}$ . Ein starres und sphärisches  $3,5\ \mu\text{m}$  Partikel hat daher eine Geschwindigkeit um die  $485\ \text{mm/s}$  und ist um  $21,4\ \text{mm/s}$  schneller als eine elastisch verformbare Zelle vergleichbarer Größe. Dieser Sachverhalt steht im Widerspruch zu den Ergebnissen von Hur *et al.* (siehe Abbildung 2.8,  $D_p/d \approx 0,3$ ). Nach deren Daten verschiebt sich die Gleichgewichtslage verformbarer Partikel (Öltröpfchen) mit zunehmender Verformbarkeit näher zur Mittelebene des Kanals. Entsprechend müsste sich eine höhere Geschwindigkeit im Vergleich zu den starren Partikeln ergeben. Offensichtlich ist dies nicht der Fall, und es stellt sich somit die Frage, ob ein Öltröpfchen als Modellsystem für eine Zelle geeignet ist. Ein wesentlicher Unterschied zwischen einem Öltröpfchen und einer Zelle besteht in der Ankopplung an die Flüssigkeit. Im Öltröpfchen werden durch äußere Strömung direkt innere Fluidumwälzungen „induziert“. Die Zelle dagegen wird von einer vergleichsweise starren, zweidimensionalen Zellmembran umgeben, die eine direkte Übertragung der äußeren Strömungen auf das Zytoplasma verhindert. Eine Verformung der Zelle bleibt allerdings möglich. Auch hier kann die Geschwindigkeitsmessung helfen, ein für Zellen passendes Modellsystem zu finden.

---

Die Empfindlichkeit des RMF-Zytometers reicht zusätzlich noch aus, um eine dritte Population (Abbildung 4.11, Pop.3)) in der Lösung zu finden, die das CASY Zytometer nicht mehr auflösen konnte. Die schräge Form der Population deutet erneut auf einen Zusammenhang zwischen Größe, Intensität und der Geschwindigkeit hin. Wie bereits bei der Größenbestimmung der Partikel gesehen wurde, werden Partikel kleiner  $3\ \mu m$  zunehmend langsamer, je kleiner sie werden. Bei dieser Population handelt es sich vermutlich um Bruchstücke der Zellen.



---

## 5. Zusammenfassung und Ausblick

---

### 5.1. Zusammenfassung

Die Messung der Geschwindigkeitsverteilung von Partikeln in einem parabolischen Strömungsprofil von Mikrokanälen, insbesondere beim Auftreten des Segré-Silberberg Effektes, ist bisher noch nicht eingehend erforscht worden und daher auch von großem akademischem Interesse. Hier wird gezeigt, wie die Dynamik der Partikel-Fluid Wechselwirkung sehr genau an Hand der Geschwindigkeitsmessung untersucht werden kann, genauer, als dies z.B. mit den bisherigen fotografischen Verfahren möglich war. In Kapitel 4 wird dazu die Partikel-Fluid Wechselwirkung experimentell untersucht und mit den in Kapitel 2.4.2 vorgestellten Theorien verglichen. Anschließend wird die technische Verwertbarkeit hinsichtlich einer Partikelgrößenmessung eingehend diskutiert.

In Kapitel 2 sind die im Verlauf dieser Arbeit zusammengetragenen, relevanten theoretischen Grundlagen für die Partikel-Fluid Wechselwirkung in Mikrokanälen referiert worden. Nach einer ausführlichen Einführung in die theoretischen Formulierungen der Fluidmechanik und in die allgemeinen Grundlagen der Partikel-Fluid Wechselwirkung ist der Stand der Forschung sowohl aus experimenteller, als auch aus theoretischer Sicht erläutert worden. Zum bisherigen Kenntnisstand ist hervorzuheben, dass die Position der Gleichgewichtslage von Partikeln im parabolischen Flussprofil abhängig von Größe, Form und Verformbarkeit ist. Es liegen keine theoretischen Formulierungen oder rechnerisch ermittelten Daten für diese Zusammenhänge in der Literatur vor, was die Notwendigkeit begründet, die Zusammenhänge direkt zu vermessen. Bei der einzigen dem Autor bekannten Untersuchung der Gleichgewichtsgeschwindigkeit<sup>5</sup> von Partikeln wurde keine Abhängigkeit von der Partikelgröße festgestellt. Insbesondere wurde dort die Gleichgewichtsgeschwindigkeit nicht präzise gemessen, sondern nur als „Nebenprodukt“ der eigentlichen Positionsbestimmung kurz beleuchtet. Aufgrund der Kenntnis der hier vorgelegten Ergebnisse muss davon ausgegangen werden, dass in der genannten Veröffentlichung von Di Carlo *et al.*<sup>5</sup> die Präzision der fluidischen Bedingungen oder der Geschwindigkeitsmessung nicht ausreichte, um den Zusammenhang zu erkennen.

In Kapitel 3 wird das auf der RMF-Technik beruhende Experiment besprochen. Das entwickelte Verfahren zur Herstellung eines Plastikchips, dessen Oberflächen optische Qualität aufweisen und der eine Laserstrahlführung hat, wird erläutert. Der mikrofluidische Kanal dieses Chips hat Kanalhöhen  $< 20 \mu\text{m}$ , der mit der Technik des UV aktivierten Bondings verschlossen wird, um die erforderlichen kleinen Kanalstrukturen herstellen zu können. Der vorgestellte Ansatz zur Verringerung der eingefrorenen Materialspannungen verspricht die Möglichkeit, zukünftig Kanäle mit noch besserer Reproduzierbarkeit der Kanalhöhe und verbesserter Geometrie herzustellen. Des Weiteren wird der experimentelle Aufbau besprochen, in dem das Konzept der RMF-Technik in „Hardware“ umgesetzt wurde. Zudem wird die prinzipielle Funktionsweise der Datenauswertung vorgestellt, mit der die Korrelationsanalyse der RMF-Technik umgesetzt wurde. Das Detektionslimit des Aufbaus ist anhand einer Messung von SPHERO<sup>TM</sup> Rainbow Calibration Partikeln auf eine mittlere Signalintensität von  $0,55 \text{ mV}$  bei einem  $\text{SNR} = 0,19$  festgelegt worden. Umgerechnet in die in der Zytometrie gebräuchliche Einheit *MEPE* entspricht dies einem Wert von etwa 15000. Es zeigt sich aber auch, dass nahe des Detektionslimits eine erhebliche Anzahl an Partikeln nicht mehr erkannt werden. Keine Einbußen bei der Detektionsrate werden erreicht bei einer mittleren Signalintensität über  $1,0 \text{ mV}$ . Zum Schluss von Kapitel 3 wird der Einfluss der Partikelkonzentration in der Probensuspension auf das Messergebnis der Gleichgewichtsgeschwindigkeit untersucht. Es konnte im untersuchten Bereich kein Einfluss festgestellt werden und eine Partikelkonzentration von  $500 \text{ \#}/\mu\text{l}$  in der Probensuspension erscheint als optimale Konzentration für die experimentel-

---

le Arbeit. Hauptsächlich auf Grund von Partikelsedimentation wird allerdings nur eine Konzentration von einem Viertel der vorgelegten Partikelkonzentration tatsächlich im Messkanal vermessen. Diese Sedimentation im Zuführungsschlauch der Probe kann verhindert werden, indem die Dichte des Fluids der Dichte der Partikel angepasst wird. Dies ist bei Polystyren Partikeln z.B. durch die Zugabe von Glycerin in das deionisierte Wasser möglich. Somit können auch bei wesentlich geringeren Kanalreynoldszahlen experimentell Ergebnisse für die Untersuchung der Partikel-Fluid Wechselwirkung für Partikel größer als  $2,11\ \mu\text{m}$  gewonnen werden. In Kapitel 4 konnten für solche Partikel nur Geschwindigkeitsverteilungen mit fast vollständig abgeschlossener Migration untersucht werden, da durch die Partikelsedimentation fast keine Partikel bis zur Detektionszone gelangen. Allerdings verändert z.B. der Einsatz von Glycerin auch die Viskosität der Suspension, was ebenfalls einen Einfluss auf die Gleichgewichtsgeschwindigkeit von Partikeln hat, wie die Diskussion der Viskositätsabhängigkeit der Gleichgewichtsgeschwindigkeit für die  $5,51\ \mu\text{m}$  Partikel in Kapitel 4.1 gezeigt hat.

Die Untersuchung der Wand- und Inertialmigration in Kapitel 4.1 von den  $0,84\ \mu\text{m}$  und den  $2,11\ \mu\text{m}$  Partikeln zeigt, dass die von B.P. Ho und L.G. Leal hergeleiteten Partikelbahnen die gemessenen Geschwindigkeitsverteilungen erklären können, aber die theoretische Laufstrecke letztlich bei den hier verwendeten Kanaldimensionen um eine Größenordnung zu gering vorhergesagt wird. Für zukünftige Experimente wird empfohlen, die Variation der Laufstrecke bei gleichbleibender Kanalreynoldszahl als zusätzlichen Zugang zur genaueren Analyse der Laufstrecken zu nutzen. Die abschließenden Untersuchungen der Gleichgewichtsgeschwindigkeiten in diesem Kapitel zeigen, dass mit der Messung der Gleichgewichtsgeschwindigkeit sehr präzise eine Kanalreynoldszahl definiert werden kann, ab der bei gegebener Laufstrecke von vollständig abgeschlossener Migration gesprochen werden kann. Diese Experimente liefern grundlegende Daten, insbesondere für die Verfeinerung der Theorien zur Wand- und Inertialmigration.

In Kapitel 4.2 ist die Abhängigkeit der Gleichgewichtsgeschwindigkeit von der Partikelgröße eingehend untersucht und die Präzision der Partikelgrößenmessung anhand der Gleichgewichtsgeschwindigkeit analysiert worden. Die optimale Auflösung des Partikeldurchmessers für einen Messbereich von  $4,24\ \mu\text{m} \leq D_p \leq 6,42\ \mu\text{m}$  findet sich bei einer Kanalhöhe von  $d = 11,9\ \mu\text{m}$  und einer Kanalreynoldszahl von 14,9. Zudem deutet der Trend daraufhin, dass bei höheren Kanalreynoldszahlen eine weiter verbesserte Auflösung erwartet werden kann.

Die Messung der Partikelgröße mit Hilfe der Gleichgewichtsgeschwindigkeit hat mehrere Vorteile gegenüber den etablierten Techniken zur Größenmessung, wie z.B. mittels Streulicht oder mittels dielektrischer Eigenschaften. Die Geschwindigkeitsmessung ist ein Verfahren, dass es erlaubt in, im Vergleich zu den anderen Verfahren, kurzer Zeit statistisch signifikante Partikelzahlen zu messen. Dabei wird die Größe jedes Partikels individuell gemessen, was ein großer Vorteil gegenüber der Streulicht Technik ist, da diese nur den Mittelwert und die Verteilungsbreite der am häufigsten vorkommenden Partikel zuverlässig messen kann. Partikelpopulationen mit geringer Konzentration werden bei der Streulicht Technik unterdrückt. Die dielektrische Größenmessung hängt davon ab, ob die zu messenden Partikel ähnliche dielektrische Eigenschaften im Vergleich zu den Kalibrationspartikeln haben. Dies ist bei der Geschwindigkeitsmessung nicht notwendig, da die Geschwindigkeit direkt vom Partikeldurchmesser und nicht von anderen Materialeigenschaften, wie z.B. der Dichte der Partikel, abhängig ist. Die hydrodynamischen Eigenschaften (Viskosität und Dichte) sind einfacher zu kontrollieren, da ihre Abhängigkeit von der Temperatur wesentlich geringer ist als die Amplitude des Laserlichts; die Streulicht Technik ist anfälliger gegen Temperaturschwankungen.



---

Die detaillierte Untersuchung der  $5,51\ \mu\text{m}$  Population mit Hilfe der vorher erstellten Kalibrationsgerade zeigt, dass bei einer Messung der Gleichgewichtsgeschwindigkeit die vom Hersteller angegebene Partikelgröße um ungefähr 1,6 % abweicht, was als sehr guter Wert für die Größenmessung angesehen wird, da nur eine lineare Näherung der Kalibrationskurve eingesetzt wurde. Die Herstellerangabe der Standardabweichung des Partikeldurchmessers konnte bis auf eine Abweichung von  $10\ \text{nm}$  genau nachgemessen werden und es konnte eine minimale Auflösung der Partikelgröße von  $55\ \text{nm}$  ermittelt werden. Durch eine Erhöhung der Abtastrate kann diese minimale Auflösung weiter reduziert werden. Der dadurch entstehende steigende Rechenaufwand kann durch den Einsatz moderner Rechenelektronik abgefangen werden.

Abschließend wurde der experimentelle Aufbau anhand von menschlichen Knochenmarkszellen der Zelllinie SUP-B15 mit einem kommerziell erhältlichen Durchflusszytometer des Typs CASY Modell TT verglichen. Auch hier zeigt sich, dass die Schwerpunktsgeschwindigkeit von Populationen mit deren mittlerer Größe zusammenhängt. Die Kalibrationsgerade für die starren, sphärischen Partikeln kann aber nicht auf die Zellen übertragen werden, da deren Geschwindigkeit durch weitere Einflüsse wie deren Elastizität und Verformbarkeit maßgeblich beeinflusst wird. Ein Vergleich mit Messergebnissen von Hur *et al.*, für Gleichgewichtsposition von verformbaren Öltröpfchen zeigt zudem, dass Öltröpfchen aus hydrodynamischer Sicht kein optimales Modellsystem für Zellen darstellen.

## 5.2. Ausblick

Die Erweiterung des Messbereichs der Kanalreynoldszahlen sowohl zu niedrigeren, als auch höheren Werten für alle Partikelgrößen ist ein wichtiger Schritt für zukünftige Messungen, da dann die Dynamik des Segré-Silberberg Effektes auch für mehr Partikelgrößen untersucht werden kann. Wie schon bereits erwähnt, kann das Partikelverhalten bei niedrigeren Kanalreynoldszahlen als in dieser Arbeit studiert werden, wenn die Sedimentation durch Zugabe von z.B. Glycerin verhindert wird. Dabei muss die auftretende Veränderung der Viskosität beachtet werden, die bei einer Zugabe von Glycerin im Vergleich zu reinem Wasser deutlich erhöht ist. Um gleiche Kanalreynoldszahlen wie in dieser Arbeit zu erreichen, muss dann die Flussrate erhöht werden. Diese muss auch erhöht werden um größere Kanalreynoldszahlen als die in dieser Arbeit verwendeten, zu erreichen. Die Erweiterung des Messbereichs der Kanalreynoldszahlen führt letztlich auf eine Erhöhung der Druckstabilität des Chips, um die höheren Flussraten zu ermöglichen. Dafür müssen die Bondingparameter angepasst werden. H. Shinohara *et al.*<sup>45</sup> haben gezeigt, dass ein Maximum der Verbindungsfestigkeit für eine bestimmte Belichtungszeit existiert und dementsprechend mit zu kurzer als auch mit zu langer Belichtungszeit nicht die optimale Verbindungsfestigkeit erreicht wird. Im Bondingprozess dieser Arbeit scheinen die Belichtungszeiten immer noch zu lang zu sein. Die Verwendung von Prozessgasen, wie z.B. Ozon, bei der Belichtung ist auch in Betracht zu ziehen, mit denen die Verbindungsfestigkeit zusätzlich erhöht werden kann.

Die Präzision der Geschwindigkeitsmessung kann mit Hilfe einer strengen Kontrolle der Fluidtemperaturen wesentlich erhöht werden. Da die Umgebungstemperatur im Labor variiert und darauf wenig Einfluss genommen werden kann, sollte für diese Kontrolle ein aktives Verfahren in Betracht gezogen werden. Im ersten Schritt sollte es ausreichen die Temperatur der Fluide in den Spritzen zu messen und zu regeln, so dass die in den Messkanal eintretenden Fluide eine vorgegebene Temperatur haben. Beim Transport zum Messkanal durchströmen die Fluide Plastikschräuche mit geringer Wärmeleitfähigkeit, so dass der Einfluss der Umgebungstemperatur in der, den Aufbau umgebenden, lichtdichten Box, als gering eingeschätzt

---

wird. In einem zweiten Schritt kann aber auch dieser Einfluss durch eine aktive Temperaturkontrolle der Umgebung in der Box behoben werden.

Die Beschleunigung der Auswertesoftware ist ein weiterer, wesentlicher Aspekt für zukünftige Arbeiten am Experiment. Bisher benötigt die Software zur Auswertung einer Messung ungefähr einen Tag. Dementsprechend ist die Zeit, bis das Ergebnis einer ganzen Messreihe vorliegt, lang. Dies ist insbesondere dann störend, wenn sich durch die Auswertung der Messreihe herausstellt, dass Fehler aufgetreten sind. Die Wichtigkeit der bereits begonnenen Arbeiten an der Umsetzung der Auswertesoftware in Echtzeit mit Hilfe eines FPGA<sup>d</sup> wird hier daher betont.

Die Partikelgrößenmessung über die Messung der Gleichgewichtsgeschwindigkeit war in dieser Arbeit nur im Partikelgrößenbereich  $4,24 \mu\text{m} \leq D_p \leq 6,42 \mu\text{m}$  möglich. Dieser Bereich entspricht ungefähr 17% der Kanalhöhe  $d$ . Würde man die Kanalhöhe verdoppeln, so würde sich dieser Bereich zu 9% verringern. Warum sollte aber in einem doppelt so hohen Kanal bei gleicher Kanalreynoldszahl die Größenmessung nicht auch in einem Bereich von 17% der Kanalhöhe möglich sein? Diese einfache Betrachtungsweise legt die Vermutung nahe, dass der Messbereich von der Kanalhöhe abhängt. Wie genau die Grenzen des Messbereichs von der Höhe abhängen ist eine wichtige Untersuchung für die weitere Entwicklung dieser Technik. Anstatt das Fluoreszenzlicht von Partikeln für die RMF-Technik zu verwenden, kann auch deren Streulicht verwendet werden, d.h. das Streulicht wird moduliert. Mit dieser Weiterentwicklung würde die Beschränkung der Partikelgrößenmessung auf fluoreszierende Partikel fallen. Bis zu welcher Partikelgröße dies möglich ist, wäre ein weiterer, wichtiger Aspekt für zukünftige Untersuchungen. Insbesondere sind nicht fluoreszierende Partikel mit wesentlich geringerer Standardabweichung und in deutlich mehr verschiedenen Größen verfügbar, so dass auch die Genauigkeit der Untersuchung der Dynamik des Segré-Silberberg Effektes mit dem Umbau des Experiments auf die Verwendung von Streulicht erhöht werden kann.

Schließlich bleibt noch zu erwähnen, dass natürlich die Dynamik des Segré-Silberberg Effektes für Partikel mit unterschiedlicher Verformbarkeit, Elastizität und Form untersucht werden kann. Diese Untersuchungen sind insbesondere für die Frage nach einem geeigneten Modellsystem für Zellen von Interesse. Auch das Verhalten verschiedenster Arten von Partikeln (fest, elastisch, sphärisch usw.) in nicht-Newtonschen Medien wäre von großem Interesse, da besonders in diesem Bereich noch wenig experimentelle Ergebnisse vorhanden sind.

---

<sup>d</sup> Field Programmable Gate Array (FPGA): Integrierter Schaltkreis, der frei programmiert werden kann.

---

## 6. Anhang

---

### 6.1. Herleitung des Strömungsprofils eines Kanals mit rechteckigem Querschnitt

Gleichung (2.18) beschreibt das Geschwindigkeitsprofil eines Kanals mit rechteckigem Querschnitt. Es ist die Lösung der partiellen Differentialgleichung (2.16) unter Berücksichtigung der Randbedingungen (2.17). Diese Lösung zu erhalten ist nicht trivial. Im Fall der Rohrströmung kann das Problem auf einen eindimensionalen Fall reduziert werden, da Rotationsymmetrie um die Längsachse des Rohres herrscht. Bei der Strömung durch einen Kanal mit rechteckigem Querschnitt geht dies nicht. Als Ansatz der Lösung von Gleichung (2.16) unter den Randbedingungen (2.17) wird die Fourier-Transformation verwendet

$$u(y, z) = \sum_{i=1}^{\infty} f_i(z) \cos\left(\frac{i\pi y}{w}\right) \quad (6.1)$$

Dieser Ansatz erfüllt die erste Randbedingung  $u(+w/2, z) = u(-w/2, z) = 0$  für alle ungeraden  $i$ . Für alle geraden  $i$  müssen die Fourierkoeffizienten  $f_i(z) = 0$  sein. Zudem müssen die Fourierkoeffizienten  $f_i(z)$  die zweite Randbedingung  $u(y, +d/2) = u(y, -d/2) = 0$  erfüllen. Einsetzen des Ansatzes (6.1) in Gleichung (2.16) führt zu

$$\frac{1}{\mu} \frac{\partial p}{\partial x} = \sum_{i=1}^{\infty} \left( \frac{\partial^2}{\partial z^2} (f_i(z)) - \left(\frac{i\pi}{w}\right)^2 f_i(z) \right) \cos\left(\frac{i\pi y}{w}\right) \quad (6.2)$$

Der linke Term von Gleichung (6.2) ist bei einer Poiseuille Strömung konstant. Seine Transformation lautet daher

$$\frac{1}{\mu} \frac{\partial p}{\partial x} = \frac{1}{\mu} \frac{\partial p}{\partial x} \frac{4}{\pi} \sum_{i=1,3,5,\dots}^{\infty} \frac{1}{i} \cos\left(\frac{i\pi y}{w}\right) \quad (6.3)$$

Diese Transformation erfordert, dass alle Fourierkoeffizienten  $f_i(z) = 0$  sein müssen, was schon die Randbedingung erfordert, so dass im Folgenden nur noch über ungerade  $i$  summiert wird. Die vollständige Fourier-Transformation von Gleichung (2.16) lautet folglich

$$\frac{1}{\mu} \frac{\partial p}{\partial x} \frac{4}{\pi} \sum_{i=1,3,\dots}^{\infty} \frac{1}{i} \cos\left(\frac{i\pi y}{w}\right) = \sum_{i=1,3,5,\dots}^{\infty} \left( \frac{\partial^2}{\partial z^2} (f_i(z)) - \left(\frac{i\pi}{w}\right)^2 f_i(z) \right) \cos\left(\frac{i\pi y}{w}\right) \quad (6.4)$$

Wenden wir uns nun der Bestimmung der Fourierkoeffizienten  $f_i(z)$  für alle ungeraden  $i$  zu. Dafür muss die folgende, aus Gleichung (6.4) resultierende, inhomogene Differentialgleichung zweiter Ordnung gelöst werden.

$$\frac{1}{\mu} \frac{\partial p}{\partial x} \frac{4}{i\pi} = \frac{\partial^2}{\partial z^2} (f_i(z)) - \left(\frac{i\pi}{w}\right)^2 f_i(z) \quad (6.5)$$

Zuerst wird eine Lösung  $f_i(z)_h$  der homogenen Differentialgleichung gesucht. Das charakteristische Polynom des homogenen Teils von Differentialgleichung (6.5) lautet

$$\lambda^2 - \left(\frac{i\pi}{w}\right)^2 \lambda = 0 \quad (6.6)$$

mit den Nullstellen  $\lambda_1 = 0$  und  $\lambda_2 = i\pi/w$ . Daher liegt der folgende Ansatz für  $f_i(z)_h$  nahe

$$f_i(z)_h = A e^{\lambda_2 z} \quad (6.7)$$

Mit den Identitäten

$$\sinh(x) = \frac{e^x - e^{-x}}{2}, \quad \cosh(x) = \frac{e^x + e^{-x}}{2} \quad (6.8)$$

wird der Ansatz (6.7) umgerechnet zu

$$f_i(z)_h = A \cosh\left(\frac{i\pi z}{w}\right) + A \sinh\left(\frac{i\pi z}{w}\right) \quad (6.9)$$

Eine partikuläre Lösung der inhomogenen Differentialgleichung (6.5) kann einfach gefunden werden mit dem Ansatz

$$f_i(z)_p = \text{const.} = C \quad (6.10)$$

da der inhomogene, rechte Teil der Differentialgleichung (6.5) konstant ist. Einsetzen in die Differentialgleichung (6.5) liefert

$$C = -\frac{4w^2}{i^3\pi^3} \frac{1}{\mu} \frac{\partial p}{\partial x} \quad (6.11)$$

Die Addition von  $f_i(z)_h$  und  $f_i(z)_p$  führt bekanntlich zur allgemeinen Lösung der Differentialgleichung (6.5)

$$f_i(z) = A \cosh\left(\frac{i\pi z}{w}\right) + A \sinh\left(\frac{i\pi z}{w}\right) - \frac{4w^2}{i^3\pi^3} \frac{1}{\mu} \frac{\partial p}{\partial x} \quad (6.12)$$

Das Berücksichtigen der zweiten Randbedingung  $u(y, +d/2) = u(y, -d/2)$  zeigt, dass der  $\sinh(i\pi z/w)$  Term diese nicht erfüllt und daher gestrichen wird. Die Randbedingung  $u(y, \pm d/2) = 0$  liefert  $A$  zu

$$A = \frac{4w^2}{i^3\pi^3} \frac{1}{\mu} \frac{\partial p}{\partial x} \frac{1}{\cosh\left(\frac{i\pi d}{2w}\right)} \quad (6.13)$$

Damit werden die Fourierkoeffizienten  $f_i(z)$

$$f_i(z) = \frac{4w^2}{i^3\pi^3} \frac{1}{\mu} \left(-\frac{\partial p}{\partial x}\right) \left[1 - \frac{\cosh\left(\frac{i\pi z}{w}\right)}{\cosh\left(\frac{i\pi d}{2w}\right)}\right] \quad (6.14)$$

Einsetzen der Fourierkoeffizienten (6.14) in Gleichung (6.1) führt zu

$$u(y, z) = \frac{4w^2}{\mu\pi^3} \left(-\frac{\partial p}{\partial x}\right) \sum_{i=1,3,5,\dots}^{\infty} \left[1 - \frac{\cosh\left(\frac{i\pi z}{w}\right)}{\cosh\left(\frac{i\pi d}{2w}\right)}\right] \cdot \frac{\cos\left(\frac{i\pi y}{w}\right)}{i^3} \quad (6.15)$$

Da das Vorzeichen des Terms  $\cos(i\pi y/w)$  abwechselnd mit steigendem  $i$  alterniert, muss noch ein Faktor  $(-1)^{(i-1)/2}$  hinzugefügt werden, um dies auszugleichen. Zusammen mit diesem Faktor ergibt sich Gleichung (2.18).

$$u(y, z) = \frac{4w^2}{\mu\pi^3} \left(-\frac{\partial p}{\partial x}\right) \sum_{i=1,3,5,\dots}^{\infty} (-1)^{\frac{i-1}{2}} \left[1 - \frac{\cosh\left(\frac{i\pi z}{w}\right)}{\cosh\left(\frac{i\pi d}{2w}\right)}\right] \cdot \frac{\cos\left(\frac{i\pi y}{w}\right)}{i^3} \quad (2.18)$$

## 6.2. Absolute Messwerte der Geschwindigkeiten

Die absoluten Messwerte der Geschwindigkeit zu den Messreihen (exemplarisch in Tabelle 4.2) der Suspensionen (Tabelle 4.1) aus Kapitel 4.1 sind in der Tabelle 6.1 wiedergegeben.

**Tabelle 6.1 Absolute Geschwindigkeitsmesswerte der Messreihen (siehe Tabelle 4.2) der vier Suspensionen aus Tabelle 4.1.**

Tageszeit	Reynoldszahl bei 19,5°C	Reynoldszahl bei 22,5°C	Reynoldszahl bei 24,5°C	max. Geschw. $v_{\max}$	Fehler $\Delta v_{\max}$	0,84 $\mu\text{m}$ Population		5,51 $\mu\text{m}$ Population		2,11 $\mu\text{m}$ Population	
hh:mm				mm/s	mm/s	Schwerpunkts- geschw. $v_s$	Fehler $\Delta v_s$	Schwerpunkts- geschw. $v_s$	Fehler $\Delta v_s$	Schwerpunkts- geschw. $v_s$	Fehler $\Delta v_s$
09:37	13,67	14,90	15,84	658,13	0,17	464,32	0,70	473,11	0,10	482,88	0,04
09:54	6,85	7,47	7,93	329,77	0,06	268,44	0,78	240,94	0,20	247,80	0,14
10:01	0,52	0,57	0,61	25,26	0,05						
10:12	8,54	9,31	9,90	411,29	0,08	335,28	0,74	300,28	0,13	306,55	0,12
10:20	0,91	1,00	1,06	44,07	0,04						
10:32	10,26	11,19	11,89	494,25	0,07	401,28	0,68	361,36	0,16	368,27	0,11
10:50	5,14	5,61	5,96	247,74	0,04			187,44	0,30	192,75	0,23
11:00	3,42	3,73	3,96	164,72	0,02			129,85	0,44	139,35	0,37
11:16	13,59	14,82	15,75	654,52	0,10	532,41	0,75	478,59	0,22	487,37	0,12
										3,30 $\mu\text{m}$ Population	
11:32	13,68	14,92	15,86	658,95	0,12	457,90	0,55	472,13	0,05	486,13	0,03
11:56	6,83	7,45	7,91	328,94	0,07	227,72	0,48	237,78	0,09	243,66	0,04
12:05	0,52	0,56	0,60	24,92	0,05					19,49	0,18
12:20	8,52	9,29	9,87	410,17	0,09	287,79	0,52	295,55	0,06	303,75	0,03
12:28	0,91	0,99	1,05	43,84	0,06					33,57	0,14
12:43	10,24	11,17	11,87	493,27	0,11	346,73	0,50	354,31	0,05	364,70	0,03
13:31	5,12	5,59	5,94	246,80	0,07	174,81	0,61	179,53	0,18	183,34	0,05
13:39	3,41	3,72	3,96	164,47	0,04			120,39	0,10	122,79	0,05
13:52	13,63	14,86	15,79	656,39	0,14	455,37	0,58	470,39	0,06	484,64	0,03
										4,24 $\mu\text{m}$ Population	
14:51	13,67	14,90	15,84	658,07	0,11	464,09	0,55	470,99	0,05	485,34	0,04
15:10	6,82	7,44	7,90	328,48	0,07	236,49	0,55	236,89	0,11	243,60	0,09
15:18	0,52	0,57	0,60	25,07	0,05					19,59	0,14
15:31	8,52	9,29	9,87	410,27	0,07	286,04	0,44	294,79	0,08	303,71	0,07
15:40	1,13	1,23	1,31	54,52	0,03					42,15	0,23
15:52	10,20	11,12	11,81	491,02	0,11	347,67	0,47	352,61	0,10	363,94	0,07
16:20	5,14	5,60	5,95	247,49	0,05	183,01	0,50	179,16	0,16	184,45	0,09
16:31	3,42	3,73	3,96	164,65	0,04			120,25	0,24	123,65	0,12
16:43	13,61	14,84	15,77	655,25	0,12	462,89	0,43	470,01	0,08	484,81	0,06
										6,42 $\mu\text{m}$ Population	
17:06	13,64	14,87	15,81	656,85	0,11	465,69	0,37	475,67	0,04	468,94	0,06
17:16	6,84	7,46	7,93	329,59	0,05	240,25	0,38	241,15	0,05	236,42	0,09
17:26	5,15	5,61	5,97	248,00	0,03	184,11	0,32	183,00	0,06	178,61	0,09
17:53	8,54	9,31	9,89	411,06	0,05	295,34	0,30	299,12	0,04	293,82	0,06
18:05	10,24	11,16	11,86	492,91	0,07	350,02	0,30	357,89	0,04	351,88	0,06
18:15	13,64	14,88	15,81	657,02	0,10	456,12	0,41	474,78	0,05	467,52	0,08

---

## Danksagung

---

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen, um all denen Danke zu sagen, ohne die ich diese Doktorarbeit nicht hätte schreiben können.

Meinem Betreuer am Fraunhofer ICT-IMM, **Herr Dr. Michael Baßler** möchte ich dafür danken, dass er mir diese Arbeit ermöglichte. Du hast mich damals von diesem Thema überzeugt und mir alle Freiheiten gelassen meine Ideen zu entwickeln. Auch hast Du mich immer gefordert: Du hast mir Konferenzbeiträge ermöglicht, mich auf Fortbildungen gehen lassen und mich auf Messen mitgenommen. Ich habe dies nie als selbstverständlich betrachtet und bedanke mich herzlich bei Dir für die lehrreiche und spannende Zeit.

Meinem Doktorvater **Prof. Dr. Thomas Walther** möchte ich für die Übernahme der Betreuung danken. Ihre vielen guten Ratschläge insbesondere während des Aufbaus des Experiments waren unerlässlich für die Fertigstellung dieser Arbeit. Ich danke Ihnen für die viele Zeit, die Sie dafür geopfert haben und die Bereitschaft für meine Arbeit nach Mainz zu fahren. Ihre stets interessierte, freundliche und damit sehr motivierende Art gab mir immer das Gefühl großer Wertschätzung meiner Arbeit. Ich bin Ihnen und der gesamten **AG Laser- und Quantenoptik** dankbar, dass ich so gut aufgenommen und integriert wurde, so dass ich mich nie wie ein externer Doktorand gefühlt habe.

Ich danke Herrn **Tobias Broger** für das Schreiben der Software zur Datenaufnahme und Herrn **Peter Spang** für die große Hilfe bei der Entwicklung des UV-aktivierten Bondens. Mehr noch danke ich Euch beiden aber für die Freundschaft, die mir die Zeit der Doktorarbeit leichter und schöner gemacht hat. Frau **Khaliun Miagmar** und Frau **Lisa Schott** danke ich für die Herstellung der angefärbten Zellen/Bakterien. Ich konnte mich auf Euch verlassen, was insbesondere deswegen so wichtig war, da sich mein Wissen in der Biologie in Grenzen hält.

Herrn **Stephan Quint** möchte ich für die Hauptarbeit beim Schreiben der Datenauswertungssoftware danken. Deine Idee des Einsatzes der Wavelet Transformation ist der Kern, der diese Software überhaupt zum Auswerten brachte. **Stephan Arlinghaus** danke ich für die Simulation der Auslenkung der Kanalfolie und **Karl-Peter Scheelhaas** für die Simulation des Strömungsprofils im „nicht ganz“ rechtwinkligen Kanalquerschnitt.

Meiner Frau **Miriam Sommer** bin ich zutiefst dankbar für ihre Liebe. Mit Deinem Verständnis und Zuspruch und besonders mit Deinem unerschütterlichen Glauben an mich hast Du mir geholfen lange Durststrecken durchzustehen! Mit dir finde ich den erholsamen Abstand, um Kraft für die Arbeit zu schöpfen. Meinen Eltern Frau **Ilse Sommer** und Herr **Jürgen Sommer**, sowie meiner Schwester Frau **Sigune Sommer** danke ich von Herzen, für all ihre Unterstützung und Hilfe. Auf Euch konnte ich mich immer verlassen, so auch wieder bei dieser Doktorarbeit. Ich danke auch meiner gesamten **Familie** in Taunusstein und Bad Sobernheim. Bei jedem von Euch finde ich Rückhalt und Beistand.

Danke!

---

## Notation

---

$\rho$	Dichte
$\vec{v}$	Geschwindigkeit des Fluids
$\vec{v}_p$	Geschwindigkeit des Partikels
$\langle v \rangle$	mittlere Strömungsgeschwindigkeit im Kanal/Rohr
$v_{max}$	maximale Geschwindigkeit des parabolischen Flussprofils
$v_s$	Schwerpunktsgeschwindigkeit
$p$	Druck im Kanal
$T$	Temperatur des Fluids
$h$	Enthalpie des Fluids
$k$	Wärmeleitfähigkeit des Fluids
$\vec{g}$	Gravitationskonstante
$\tau_{ij}$	Spannungstensor
$\delta_{ij}$	Kronecker-Delta
$\varepsilon_{ij}$	Dehnungstensor
$\mu$	Viskosität des Fluids
$\lambda_{vol}$	Volumenviskosität
$t$	Zeit
$\vec{x}$	Ort
$L$	charakteristische Länge
$U$	charakteristische Geschwindigkeit
$u_{rel}$	relative Geschwindigkeit zwischen Partikel und der ungestörten Fluidstromlinie durch den Partikelschwerpunkt
$p_\infty$	charakteristischer Druck(zu wählen)
$\cdot^*$	dimensionslose Größe
$Re$	Reynoldszahl
$Re_K$	Kanalreynoldszahl
$Re_p$	Partikelreynoldszahl
$R$	Rohrradius
$R_p$	Partikelradius
$D_p$	Partikeldurchmesser
$D_h$	hydraulischer Durchmesser
$L_W$	Länge des Partikelwirbels
$m_p$	Masse des Partikels
$F_S$	Stokessche Partikelkraft
$C_D$	Strömungswiderstandskoeffizient
$\alpha$	Winkel der Stromlinienseparation an der Partikeloberfläche
$d$	Kanalhöhe
$w$	Kanalbreite
$w_H$	Kanalbreite des Hüllstroms

---

$w_P$	Kanalbreite des Probenstroms
$w_F$	Kanalbreite des fokussierten Stroms
$w_O$	Kanalbreite des Auslasskanals
$Q_P$	Probenvolumenfluss
$Q_H$	Hüllflüssigkeitsvolumenfluss
$Q_O$	Auslassvolumenfluss
$d_1$	Abstand Partikelschwerpunkt zur Kanalwand
$\kappa$	Gradient des Geschwindigkeitsvektorfeldes
$\vec{F}$	Kraft auf ein Partikel
$l$	Laufstrecke in Strömungsrichtung
$l_{GG}$	Laufstrecke in Strömungsrichtung bis zum Erreichen der Gleichgewichtslage
$T_G$	Glasübergangstemperatur
$f$	Brennweite
$f_A$	Abtastfrequenz
$I$	mittlere Intensität
$I_S$	Schwerpunktsintensität
$I_{S,v}$	Schwerpunktsintensität eines einzelnen Geschwindigkeitklasse
$S_O$	Offset des Detektorsignals
$\sigma_R$	Schwankungsbreite Rauschen
$c_P$	Partikelkonzentration der Probensuspension
$c_M$	Gemessene Partikelkonzentration
$t_M$	Dauer der Messung



---

## Abbildungsverzeichnis

---

Abbildung 2.1	Skizze eines Rechteckkanals mit eingezeichnetem Strömungsprofil.....	5
Abbildung 2.2	Skizze einer Kanalkreuzung, mit hydrodynamischen Fokussierung.....	7
Abbildung 2.3	Sphärisches Partikel im schleichenden Fluss.....	8
Abbildung 2.4	Abhängigkeit $C_D$ von $Re$ . ....	11
Abbildung 2.5	Skizze zur Bemaßungen der Partikelbewegungen. ....	13
Abbildung 2.6	Ergebnis von Segré und Silberberg.....	14
Abbildung 2.7	Von M. Tachibana gemessene Partikeltrajektorie.....	15
Abbildung 2.8	Von Hur et al. experimentell bestimmte Gleichgewichtspositionen .....	16
Abbildung 2.9	Skizze der Strömung in der Untersuchung von P.G. Saffman.....	17
Abbildung 2.10	Volumenstromlinien $\psi$ um ein frei bewegliches Partikel.....	19
Abbildung 2.11	Kraft $F_{p,z}$ auf ein Partikel in einer parabolischen Strömung .....	21
Abbildung 2.12	Von B.P. Ho und L.G. Leal berechneten Partikeltrajektorien .....	21
Abbildung 2.13	Vergleich Ergebnis M. Tachibana und B.P. Ho und L.G. Leal.....	22
Abbildung 2.14	Verschiebung der Gleichgewichtslage mit $Re_K$ . ....	23
Abbildung 3.1	Prinzipieller Aufbau der RMF-Technik .....	25
Abbildung 3.2	Skizze des gefrästen Chiprohrlings im Maßstab 1:1. (Maße in $mm$ ).....	27
Abbildung 3.3	Aufbau des „Sandwichs“ beim Prägeprozess.....	28
Abbildung 3.4	Außenmaße und Strukturen nach dem Heißprägen des Chips.....	31
Abbildung 3.5	Foto des Chips SOI-70, Skizze des Querschnitts und Aufsicht.....	32
Abbildung 3.6	Verstopfung durch ein Partikelagglomerat .....	33
Abbildung 3.7	REM Aufnahme des Kanalquerschnitts .....	34
Abbildung 3.8	Auswirkung der Spannungen im Chip auf die Kanalhöhe .....	35
Abbildung 3.9	Vergleich der Spannung im Chip bei unterschiedlicher Prägekraft.....	36
Abbildung 3.10	Simulation des Strömungsprofils bei gebogenem Kanalboden .....	37
Abbildung 3.11	Skizze und Foto des experimentellen Aufbaus.....	39
Abbildung 3.12	Skizzen zur Korrelationsanalyse.....	41
Abbildung 3.13	Wavelet-Analyse des Korrelationssignals. ....	44
Abbildung 3.14	3D-Korrelationsmatrix .....	45
Abbildung 3.15	Wahl des Detektorsignalausschnitts .....	46

---

Abbildung 3.16	Detektion von Partikeln bei überlappenden Partikelsignalen .....	47
Abbildung 3.17	Scatterplot der Kalibrationspartikel und <i>Marinococcus Luteus</i> Bakterien ..	48
Abbildung 3.18	Beispiel für die zeitliche Entwicklung der Partikelgeschwindigkeiten $v_p$ ..	49
Abbildung 3.19	Intensitätshistogramme von Abbildung 3.17 .....	51
Abbildung 3.20	Scatterplot der Konzentrationsuntersuchung.....	53
Abbildung 3.21	Geschwindigkeitshistogramme der Konzentrationsuntersuchung.....	55
Abbildung 4.1	Scatterplot der Messung der $4,24\ \mu m$ Suspension.....	59
Abbildung 4.2	Schemata zur Entstehung der Histogramme kleiner Partikel .....	60
Abbildung 4.3	Vergleich der Histogramme von $0,84\ \mu m$ Partikeln mit der Theorie .....	62
Abbildung 4.4	Vergleich der Histogramme von $2,11\ \mu m$ Partikeln mit der Theorie .....	63
Abbildung 4.5	Normierte Geschwindigkeitsverteilungen aller Messungen von Kapitel 4 ..	65
Abbildung 4.6	Temperaturabhängigkeit der Gleichgewichtsgeschwindigkeit.....	66
Abbildung 4.7	Die Schwerpunktsgeschwindigkeiten gegen $Re_K$ .....	68
Abbildung 4.8	Die Standardabweichung gegen $Re_K$ .....	69
Abbildung 4.9	Partikelgröße aufgetragen gegen die Geschwindigkeit .....	71
Abbildung 4.10	Zusammenhang Partikelgröße und mittlere Intensität .....	73
Abbildung 4.11	Scatterplot der Messung einer Zellsuspension aus SUP-B15 Zellen .....	74

---

## Tabellenverzeichnis

---

Tabelle 3.1	Messwerte der Kalibrationspartikel- und <i>Marinococcus Luteus</i> Messung .	50
Tabelle 3.2	Parameter der Partikelkonzentrationsuntersuchung .....	53
Tabelle 3.3	Schwerpunkte der einzelnen 6,42 $\mu m$ Partikel, Zwillinge und Drillinge ..	54
Tabelle 3.4	Schwerpunktsgeschwindigkeit bei versch. Partikelkonzentrationen .....	55
Tabelle 4.1	Enthaltene Partikelsorten der vier Suspensionen .....	57
Tabelle 4.2	Strömungsbedingungen der Messreihe der 3,30 $\mu m$ Suspension. ....	58
Tabelle 4.3	Gleichgewichtsgeschwindigkeiten der Migrationspeak für $Re_K > 3,0$ .....	70
Tabelle 7.1	Absolute Geschwindigkeitsmesswerte der Messreihen. ....	83

---

## Quellenverzeichnis

---

- <sup>1</sup> Dittrich, W. & Göhde, W. (1968): Automatisches Mess- und Zählgerät für die Teilchen einer Dispersion, Anmeldenr.: DE19681815352, Veröffentlichungsnr.: DE1815352 A1, Prioritätsdatum: 18.12.1968
- <sup>2</sup> Shapiro, H. M.: Practical Flow Cytometry, 4. Aufl., John Wiley & Sons, Inc., 2003
- <sup>3</sup> Kiesel, P., Bassler, M., Beck, M. & Johnson, N. M.: Spatially modulated fluorescence emission from moving particles, *Appl. Phys. Lett.*, 94, S. 041107, 2009.
- <sup>4</sup> Hur, S. C., Henderson-MacLennan, N. K., McCabe, E. R. B. & Di Carlo, D.: Deformability-based cell classification and enrichment using inertial microfluidics, *Lab Chip*, 11, S. 912, 2011.
- <sup>5</sup> Di Carlo, D., Edd, J., Humphry, K. J., Stone, H. & Toner, M.: Particle Segregation and Dynamics in Confined Flows, *Phys. Rev. Lett.*, S. 102, 2009.
- <sup>6</sup> White, F. M.: Viscous fluid flow, 3. Aufl., McGraw-Hill (McGraw-Hill international edition), Boston, 2007.
- <sup>7</sup> Lee, G.-B., Chang, C.-C., Huang, S.-B. & Yang, R.-J.: The hydrodynamic focusing effect inside rectangular microchannels, *J. Micromech. Microeng.*, 16, S. 1024–1032, 2006.
- <sup>8</sup> van Dyke, M.: Perturbation methods in fluid mechanics, 2. Aufl., Parabolic Press, Stanford, California 1978.
- <sup>9</sup> Mit freundlicher Genehmigung von Dover Publications, Inc. zur Wiedergabe von Abbildung 5.122 aus:  
Clift, R., Grace, J. R. & Weber, M. E.: Bubbles, drops, and particles, 1. Aufl., Dover Publications, Inc. Mineola, New York, 2005.
- <sup>10</sup> Clift, R., Grace, J. R. & Weber, M. E.: Bubbles, drops, and particles, 1. Aufl., Dover Publications, Inc. Mineola, New York, 2005.
- <sup>11</sup> Oseen, C. W.: Über die Stoke'sche Formel und über eine verwandte Aufgabe in der Hydrodynamik, Almqvist & Wiksell (Arkiv för matematik, astronomi och fysik), 1911.
- <sup>12</sup> Saffman, P. G.: The lift on a small sphere in a slow shear flow, *J. Fluid Mech.*, 22, S. 385, 1965.
- <sup>13</sup> Saffman, P. G.: On the motion of small spheroidal particles in a viscous liquid, *J. Fluid Mech.*, 1, S. 540, 1956.
- <sup>14</sup> Bretherton, F. P.: The motion of rigid particles in a shear flow at low Reynolds number, *J. Fluid Mech.*, 14, S. 284, 1962.
- <sup>15</sup> Fahreus, R.: Die Strömungsverhältnisse und die Verteilung der Blutzellen im Gefäßsystem, *Klinische Wochenschrift*, 7, S. 100–106, 1928.
- <sup>16</sup> Segré, G. & Silberberg, A.: Radial Particle Displacements in Poiseuille Flow of Suspensions, *Nature*, 189, S. 209–210, 1961.
- <sup>17</sup> Segré, G. & Silberberg, A.: Behaviour of macroscopic rigid spheres in Poiseuille flow, Part 2. Experimental results and interpretation, *J. Fluid Mech.*, 14, S. 136, 1962.
- <sup>18</sup> Mit freundlicher Genehmigung der Nature Publishing Group zur Wiedergabe von Abbildung 2 aus:  
Segré, G. & Silberberg, A.: Radial Particle Displacements in Poiseuille Flow of Suspensions, *Nature*, 189, S. 209–210, 1961.

- 
- <sup>19</sup> Goldsmith, H. & Mason, S. G.: The flow of suspensions through tubes. I. Single spheres, rods, and discs, *Journal of Colloid Science*, 17, S. 448–476, 1962.
- <sup>20</sup> Karnis, A., Goldsmith, H. & Mason, S. G.: The kinetics of flowing dispersions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 22, S. 531–553, 1966.
- <sup>21</sup> Oliver, D. R.: Influence of Particle Rotation on Radial Migration in the Poiseuille Flow of Suspensions, *Nature*, 194, S. 1269–1271, 1962.
- <sup>22</sup> Jeffrey, R. C. & Pearson, J. R. A.: Particle motion in laminar vertical tube flow, *J. Fluid Mech.*, 22, S. 721, 1965.
- <sup>23</sup> Tachibana, M.: On the behaviour of a sphere in the laminar tube flows, *Rheol Acta*, 12, S. 58–69, 1973.
- <sup>24</sup> Mit freundlicher Genehmigung von Springer zur Wiedergabe von Abbildung 4 aus: Tachibana, M.: On the behaviour of a sphere in the laminar tube flows, *Rheol Acta*, 12, S. 58–69, 1973.
- <sup>25</sup> Mit freundlicher Genehmigung der Royal Society of Chemistry zur Wiedergabe von Abbildung 2, c) aus: Hur, S. C., Henderson-MacLennan, N. K., McCabe, E. R. B. & Di Carlo, D.: Deformability-based cell classification and enrichment using inertial microfluidics, *Lab Chip*, 11, S. 912, 2011.
- <sup>26</sup> Hinch, E. J.: Perturbation methods, Reprint, Cambridge University Press (Cambridge texts in applied mathematics), Cambridge, UK, 1995.
- <sup>27</sup> Chaoui, M. & Feuillebois, F.: Creeping Flow around a sphere in a shear flow close to a wall, *The Quarterly Journal of Mechanics and Applied Mathematics*, 56, S. 381–410, 2003.
- <sup>28</sup> Mit freundlicher Genehmigung der Oxford University Press zur Wiedergabe von Abbildung 2, aus: Chaoui, M. & Feuillebois, F.: Creeping Flow around a sphere in a shear flow close to a wall, *The Quarterly Journal of Mechanics and Applied Mathematics*, 56, S. 381–410, 2003.
- <sup>29</sup> Cox, R. & Brenner, H.: The lateral migration of solid particles in Poiseuille flow — I theory, *Chemical Engineering Science*, 23, S. 147–173, 1968.
- <sup>30</sup> Ho, B. P. & Leal, L. G.: Inertial migration of rigid spheres in two-dimensional unidirectional flows, *J. Fluid Mech.*, 65, S. 365, 1974.
- <sup>31</sup> Mit freundlicher Genehmigung der Cambridge University Press zur Wiedergabe von Abbildung 2, 4, b) und 5, b), aus: Ho, B. P. & Leal, L. G.: Inertial migration of rigid spheres in two-dimensional unidirectional flows, *J. Fluid Mech.*, 65, S. 365, 1974.
- <sup>32</sup> Vasseur, P. & Cox, R.: The lateral migration of a spherical particle in two-dimensional shear flows, *J. Fluid Mech.*, 78, S. 385, 1976.
- <sup>33</sup> Cox, R. & Hsu, S.: The lateral migration of solid particles in a laminar flow near a plane, *International Journal of Multiphase Flow*, 3, S. 201–222, 1977.
- <sup>34</sup> Yahiaoui, S. & Feuillebois, F.: Lift on a sphere moving near a wall in a parabolic flow, *J. Fluid Mech.*, 662, S. 447–474, 2010.
- <sup>35</sup> Schonberg, J. A. & Hinch, E. J.: Inertial migration of a sphere in Poiseuille flow, *J. Fluid Mech.*, 203, S. 517, 1989.
- <sup>36</sup> Asmolov, E. S.: The inertial lift on a spherical particle in a plane Poiseuille flow at large channel Reynolds number, *J. Fluid Mech.*, 381, S. 63–87, 1999.
-

- 
- <sup>37</sup> Mit freundlicher Genehmigung der Cambridge University Press zur Wiedergabe von Abbildung 4:  
Schonberg, J. A. & Hinch, E. J.: Inertial migration of a sphere in Poiseuille flow, *J. Fluid Mech.*, 203, S. 517, 1989.
- <sup>38</sup> Truckenmüller, R., Henzi, P., Herrmann, D., Saile, V. & Schomburg, W.: Bonding of polymer microstructures by UV irradiation and subsequent welding at low temperatures, *Microsystem Technologies*, 10, S. 372-374, 2004.
- <sup>39</sup> Choi, J. O.: Degradation of poly(methylmethacrylate) by deep ultraviolet, x-ray, electron beam, and proton beam irradiations, *J. Vac. Sci. Technol. B*, 6, S. 2286, 1988.
- <sup>40</sup> Föppl, L., Mönch, E.: Praktische Spannungsoptik, 3. Aufl., Springer, Berlin, 1972.
- <sup>41</sup> Young, W. C., Budynas, R. G., Roark, R. J.: Roark's formulas for stress and strain, 7. Aufl., McGraw-Hill, New York, 2007.
- <sup>42</sup> Mertens, S.: Exhaustive search for low-autocorrelation binary sequences, *J. Phys. A: Math. Gen.*, 29, S. L473, 1996.
- <sup>43</sup> Addison, P. S.: The illustrated wavelet transform handbook. Introductory theory and applications in science, engineering, medicine, and finance, Taylor & Francis Group, New York, 2002.
- <sup>44</sup> Dokumentation: LabVIEW 2011 Advanced Signal Processing Toolkit, National Instruments Germany GmbH, München, 2011. Verfügbar im Internet unter der Adresse (Abruf: 14.6.2014):  
<http://digital.ni.com/public.nsf/allkb/2C435E782A68BF09862578B700278049>
- <sup>45</sup> Shinohara, H., Mizuno, J. & Shoji, S.: Studies on low-temperature direct bonding of VUV, VUV/O<sub>3</sub> and O<sub>2</sub> plasma pretreated cyclo-olefin polymer, *Sensors and Actuators A: Physical*, 165, S. 124–131, 2011.

---

## Veröffentlichungen und Tagungsbeiträge

---

### Veröffentlichungen

Sommer, C., Quint, S., Spang, P., Walther, T. & Baßler, M.: The equilibrium velocity of spherical particles in rectangular microfluidic channels for size measurement, *Lab on a Chip*, 14(13), S. 2319-2326, 2014.

Sommer, C., Quint, S., Spang, P., Walther, T. & Baßler, M.: Studying the Segré-Silberberg effect by velocimetry in microfluidic channels, *Advances in Fluid Mechanics X*, 82, S. 265 ff., 2014.

### Tagungsbeiträge

Sommer, C., Broger, T., Spang, P., Quint, S., Walther, T. & Baßler, M.: A Flow Cytometry concept based on spatially modulated emission, *5<sup>th</sup> International Conference on Analysis of Microbial Cells at the Single Cell Level*, Carry-Le-Rouet, Frankreich, 2011. (Vortrag)

Sommer, C., Broger, T., Spang, P., Quint, S., Walther, T. & Baßler, M.: A microfluidic flow cytometer concept based on spatially modulated emission, *Verhandl. DPG*, Berlin, 2012. (Vortrag)

Sommer, C., Quint, S., Spang, P., Broger, T., Walther, T. & Baßler, M.: A microfluidic chip based flow cytometer with a spatially modulated fluorescence signal enabling simultaneous measurement of fluorescent intensity and cell size, *Cyto 2012*, Leipzig, 2012. (Poster)

Sommer, C., Spang, P., Quint, S., Walther, T. & Baßler, M.: Studying the Segré-Silberberg effect by velocimetry in microfluidic channels, *10<sup>th</sup> International conference on Advances in Fluid Mechanics*, A Coruña, Spanien, 2014. (Vortrag)

### Sonstige Beiträge zu wissenschaftlichen Veranstaltungen

Sommer, C., Quint, S., Spang, P., Walther, T. & Baßler, M.: The velocity distribution of spherical particles in parabolic flow profiles, *6<sup>th</sup> IMM Young Scientist Workshop*, Mainz, 2012. (Vortrag)

---

## **Betreute Diplom- und Bachelorarbeiten**

---

K. Myagmar, „Bestimmung der Totalzellzahl in Trinkwasser mit einem Durchflusszytometer basierend auf der Methode der räumlich modulierten Fluoreszenz“, Diplomarbeit, Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH & Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2013.

C. Klein-Martinez, „Hochpräzise Vermessung des Volumenflusses im verzweigten Kanal eines mikrofluidischen Durchflusszytometers und Simulation des zugehörigen Strömungsprofils (2013)“, Bachelorarbeit, Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH & Fachhochschule Frankfurt am Main, 2013.



---

## Lebenslauf

---

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.



---

## Erklärung zur Dissertation

---

Hiermit versichere ich, die vorliegende Dissertation ohne Hilfe Dritter nur mit den angegebenen Quellen und Hilfsmitteln angefertigt zu haben. Alle Stellen, die aus Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht. Diese Arbeit hat in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner Prüfungsbehörde vorgelegen.

Darmstadt, den 14. Juli 2014



---

(Christian Sommer)

